

# Remoção de PPCPs em Matrizes Aquosas

Salomé de Sousa Teixeira

Mestre em Engenharia do Ambiente pela Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto para obtenção do  
grau de Doutor em Engenharia do Ambiente

## ORIENTADORA

DOUTORA Lúcia Maria da Silveira Santos

## CO-ORIENTADORA

DOUTORA Cristina Maria Fernandes Delerue Alvim de Matos

**PORTO, 2015**



## AGRADECIMENTOS

Às Professoras Doutoradas Lúcia Santos e Cristina Delerue-Matos o meu agradecimento pela disponibilidade, apoio e conhecimentos prestados ao longo deste trabalho. Não poderia deixar de reconhecer e agradecer o precioso auxílio que me concederam, mas também o cuidado e compreensão demonstradas nas fases mais difíceis desta etapa.

À Professora Doutora Arminda Alves gostaria de deixar uma palavra de reconhecimento pelas valiosas críticas e sugestões que me concedeu em algumas fases deste trabalho, agradeço ainda a disponibilidade e o apoio concedido.

Não poderia ainda, deixar de agradecer ao Sr. Serafim, à Fátima Ferreira e ao Zé Luís pela disponibilidade constante e colaboração que sempre me foi concedida. Mas não menos importante, para mim, foi a simpatia e boa disposição com que sempre me “recebiam” no laboratório de orgânica.

Ao Eng<sup>o</sup> Luís Carlos Matos, ao Luís Martins e à Lúcia Brandão agradeço toda a colaboração prestada na realização dos ensaios de caracterização da casca de noz e do carvão ativado e ao Sr. Sousa Vale todo o apoio técnico prestado.

Aos colegas de laboratório Joana, José Francisco, Rui, Mónica, Raquel, Vera, Leandro e José Avelino pela camaradagem, boa disposição e as ajudas prestadas ao longo do trabalho experimental.

Devo um agradecimento muito especial à Berta pelo apoio, camaradagem, e disponibilidade demonstrada desde os primeiros dias.

À Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Departamento de Engenharia Química e Lepabe, agradeço a disponibilização dos meios e todas as facilidades concedidas para a execução do trabalho.

Ao Instituto Superior de Engenharia do Porto e ao Instituto Politécnico do Porto agradeço o apoio concedido, ao abrigo do Programa de Formação Avançada.

À Direcção do Departamento de Engenharia Química do Instituto Superior de Engenharia o apoio e as facilidades concedidas.

À Fundação para a Ciência e Tecnologia pelo apoio financeiro (bolsa de doutoramento SFRH/BD/71074/2010).

À empresa *Carqueja Almonds* Lda. agradeço o fornecimento da casca de noz, fundamental para a realização deste trabalho.

Às colegas do Instituto Superior de Engenharia do Porto Paula Paíga, Magda e Marília a ajuda e a disponibilidade demonstrada na realização de algumas etapas experimentais.

Por último, um agradecimento muito especial às colegas Teresa, Olga e Sónia, pela enorme disponibilidade e apoio, indispensáveis para a concretização deste trabalho.



## RESUMO

A presença de diversas classes de fármacos e/ou dos seus metabolitos/produtos de degradação tem sido confirmada, por diversos estudos, em águas subterrâneas, de superfície, residuais e reservatórios de água potável, solos e sedimentos. Os potenciais impactos que podem advir da acumulação destas substâncias no ambiente suscitam preocupação na comunidade científica e nos responsáveis políticos.

Os antibióticos, a par dos fármacos com capacidade de desregulação endócrina, foram desde muito cedo identificados como uma categoria específica de poluentes com potencial de provocar impactos significativos no ambiente. A preocupação com a presença ambiental destes fármacos não esteve, inicialmente, focada na sua ecotoxicidade para os organismos a eles expostos mas, muito particularmente, na possibilidade de exercerem pressão seletiva sobre as comunidades de micro-organismos, favorecendo o aparecimento e a propagação de bactérias resistentes. Esta é ainda a principal questão que a presença de antibióticos no ambiente suscita pelas implicações que pode ter na saúde pública.

Os efluentes das estações de tratamento de águas residuais representam, atualmente, uma das mais importantes vias de entrada de fármacos de consumo humano nos meios recetores hídricos, tornando-se essencial o desenvolvimento de tecnologias/abordagens de tratamento que sejam eficazes na remoção deste tipo de contaminantes de matrizes aquosas.

O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a viabilidade de utilização de resíduos de casca de noz (*Juglans regia* L.) na remoção de dois antibióticos, Metronidazol e Sulfametoxazol, de elevado consumo.

Para avaliação do potencial de aplicação deste material consideraram-se essencialmente duas abordagens. A primeira consistiu na utilização de resíduos de casca de noz “tal qual”, isto é sem qualquer tratamento físico ou químico, e após modificação química - tratamentos ácido e alcalino. A utilização de resíduos de casca de noz como material precursor na produção de carvão ativado constituiu a segunda abordagem.

O desempenho da casca de noz, “tal qual” e após modificação química, na remoção de ambos os antibióticos apresentou uma dependência significativa com o valor de pH. As melhores condições foram obtidas para valores de  $\text{pH} \leq 4$ , que são pouco prováveis em efluentes reais. Simultaneamente a reduzida capacidade de sorção da casca de noz limita consideravelmente a sua aplicabilidade.

A segunda abordagem deste estudo contemplou numa primeira fase a definição das melhores condições para a produção de carvão ativado a partir de resíduos de casca de noz, por ativação química. Avaliou-se a influência dos parâmetros razão de impregnação (massa de casca de noz: massa de  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) e temperatura de ativação, através de um desenho experimental  $2^2$ . Os materiais produzidos foram caracterizados com o objetivo de avaliar a influência das condições de ativação nas propriedades texturais e químicas. Determinaram-se como

melhores condições de produção de carvão ativado: temperatura de 900 °C e razão de impregnação 1:1 - para um tempo de carbonização de 1 hora – carvão 900-1:1. O carvão ativado obtido nestas condições apresentou o melhor desempenho na remoção dos dois antibióticos, o maior volume de poros e maior área específica.

Para avaliação do desempenho do melhor carvão ativado produzido (carvão ativado 900 - 1:1) efetuaram-se estudos cinéticos, estudos de equilíbrio em sistemas mono e bicomponente e avaliação do efeito de alguns parâmetros na eficiência de remoção dos antibióticos em sistema mono e bicomponente.

No que se refere à cinética de sorção em sistema fechado, o modelo de pseudo-1ª ordem foi o que, de um modo geral, melhor descreveu os resultados experimentais. Verificou-se que condições de pH próximas do valor do ponto de carga zero do carvão ativado (pH próximo de 6) correspondiam, para os dois antibióticos, a uma cinética mais favorável.

As capacidades de adsorção em sistema monocomponente, previstas pelo modelo de Langmuir, foram de 107,4 e 93,5 mg/g (a 20 °C e pH 6) para Metronidazol e Sulfametoxazol, respectivamente. Os resultados observados para o sistema bicomponente mostraram, que apesar da existência de competição entre as espécies pelos sítios ativos do adsorvente, não haver evidência de efeitos de inibição na capacidade total de sorção.

O pH exerceu uma influência significativa, mas antagônica, na eficiência de remoção de ambos os antibióticos. Enquanto a remoção de Metronidazol é favorecida para valores de pH mais elevados (pH 8), o Sulfametoxazol apresenta um valor máximo de eficiência de remoção para valores de pH em torno de 5,5, registrando uma diminuição na extensão da sorção à medida que o pH aumenta. Em sistema bicomponente, a otimização simultânea das duas variáveis de resposta (capacidade de adsorção para Metronidazol e Sulfametoxazol), indicou como ótimo o valor de pH de 5,8 (para uma concentração inicial de aproximadamente 40 mg/L).

Os resultados obtidos indicam que a ativação química dos resíduos de casca de noz, com  $K_2CO_3$ , tem potencial para produzir carvões ativados eficazes na remoção dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol. Apesar do desenvolvimento de novas tecnologias de tratamento de resíduos, existe uma procura crescente de carvão ativado para o tratamento de efluentes e purificação de água potável. A produção de carvões ativados a partir de subprodutos agrícolas, tais como a casca de noz, cumpre um propósito duplo ao converter excedentes de resíduos agrícolas indesejados em adsorventes de elevado valor.

**Palavras-chave:** Antibióticos, Metronidazol, Sulfametoxazol, Sorção, Casca de Noz, Ativação Química, Carvão Ativado

## ABSTRACT

The presence of different classes of pharmaceuticals and their metabolites has been confirmed, by several studies, in underground, surface, wastewaters, reservoirs of drinking water, soils and sediments. The potential impact that may come from this accumulation of substances in the environment raises concerns to the scientific community and to political leaders.

The antibiotics, as well as the pharmaceuticals able to cause endocrinal deregulation, have long been identified as a specific category of pollutants able to provoke significant impact on the environment. The concern about the environmental presence of these pharmaceuticals hasn't been focused, at first, on its toxicity to the exposed organisms, but in particular, on the possibility of causing selective pressure on the communities of microorganisms, allowing the appearance and the propagation of resistant bacteria. That is the main issue that the presence of antibiotics in the environment raises for its effects on public health.

The effluents from wastewater treatment plants actually represent one of the most important ways of entrance of pharmaceuticals on human consumption in the aquatic environment, thus the need of development of treatment technologies that are efficient to the removal of this kind of pollutants in aqueous matrices. The current work purpose is to assess the possibility of using residues of walnut shell (*Juglans regia* L.) to remove the two widely used antibiotics, Metronidazole and Sulfamethoxazole.

To assess the possibilities of application of this material, two main approaches were considered essential. The first one consists in using residues from raw walnut shell (without any physical or chemical treatment) and after chemical modification - acid and alkaline treatment. The use of residues of walnut shell as a precursor material in the production of activated carbon was the second approach followed.

The removal efficiency of the walnut shell (raw material and chemical modified) of both antibiotics revealed a significant dependency with the value of the pH. The best conditions were achieved for values of  $\text{pH} \leq 4$ , which are unlikely in real effluents. Simultaneously the reduced ability of sorption, observed for the walnut shell, limits its applicability.

The second approach of this study considered in a first phase the definition of the best conditions for the production of activated carbon from residues of walnut shell by chemical activation. The influence of parameters such as impregnation ratio (mass of walnut shell: mass of  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) and the temperature of activation, through an experimental drawing have been assessed. The materials produced were characterized in order to assess the influence of activating conditions in chemical and textural properties.

The best conditions of production of activated carbon found were: the temperature of 900°C and the reason of impregnation 1:1 – for a time of carbonization of 1 hour. The activated carbon achieved under these

conditions presented the best performance in the removal of the two antibiotics, the highest volume of pores and the largest specific surface area.

Kinetic studies, equilibrium studies in mono and bi-component systems and the assessment of the effect of some parameters in the removal efficiency of antibiotics in mono and bi-component system were considered in order to evaluate the adsorptive proprieties of the best activated carbon produced (900-1:1).

In what concerns the kinetics of sorption in batch system, the model of pseudo 1<sup>st</sup> order was the one which in general best described the experimental results. We concluded that conditions of pH around the value of point of zero charge of the activated carbon (pH around 6) corresponded for the two antibiotics to a more favourable kinetics.

The adsorption capacities in mono-component systems, considered by Langmuir model, were of 107.4 and 93.5 mg/g (20 °C and pH 6) for Metronidazole and Sulfamethoxazole respectively. The observed results for the bi-component system showed that, despite the existence of competition between the species for the active sites of the adsorbent, there was no evidence of effects of inhibition in the total capacity of sorption.

The pH had a significant but adversary influence on the efficiency of the removal of both antibiotics. While the removal of Metronidazole increases for higher pH values (pH 8), Sulfamethoxazole presents a maximum value of removal efficacy for pH values around 5.5, revealing a decrease in the extent of sorption as the pH increases. In a bi-component system, the simultaneous optimization for the two variables (sorption capacity for the Metronidazole and Sulfamethoxazole) showed as the best value a pH of 5.8 (for an initial concentration around 40 mg/L).

The results points out that the chemical activation of walnut shell with  $K_2CO_3$  has the potential to produce activated carbons effective in the removal of antibiotics Metronidazole and Sulfamethoxazole. Despite the development of new waste treatment technologies, there is an increasing demand for activated carbon for wastewater treatment and drinking water purification. The production of activated carbons from agricultural by-products such as walnut shell provides a double purpose by converting unwanted surplus agricultural waste, into useful value-added adsorbents.

**Keywords:** Antibiotics, Metronidazole, Sulfamethoxazole, Sorption, Walnut Shell, Chemical Activation, Activated Carbon



# ÍNDICE GERAL

<b>CAPÍTULO I INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1 OS RECURSOS HÍDRICOS	3
2 CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS	4
2.1 Produtos Farmacêuticos no Ambiente	4
2.1.1 Fontes de Emissão e Vias de Entrada no Ambiente	5
2.1.2 Impactos Ambientais	6
2.1.3 Impacto Ambiental – Legislação	9
3 OS ANTIBIÓTICOS	13
3.1 A resistência e o Consumo de Antibióticos	13
3.2 Ocorrência e Impactos no Ambiente	15
3.3 Destino e Remoção de Antibióticos nos Sistemas de Tratamento de Águas Residuais	21
3.4 Tratamentos Avançados – Carvão Ativado	29
3.4.1 Carvão Ativado	32
3.4.1.1 Remoção por Carvão Ativado	32
3.4.1.2 Mecanismos de Remoção de Compostos Aromáticos	34
3.4.1.3 Fatores que Controlam o Processo de Remoção	35
3.4.2 Produção de Carvão Ativado	38
3.5 Os Antibióticos: Metronidazol e Sulfametoxazol	40
3.5.1 Características e Propriedades dos Antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol	42
4 ENQUADRAMENTO	45
 <b>CAPÍTULO II MATERIAIS E MÉTODOS</b>	 <b>47</b>
1 OS ANTIBIÓTICOS	49
2 MÉTODO ANALÍTICO	49
3 OS ADSORVENTES	50
3.1 Casca de Noz	50
3.2 Carvão Ativado	50
3.2.1 Produção Carvão Ativado – Ativação Química	51
4 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS	53
4.1 Caracterização Física e Textural	53
4.1.1 Distribuição Granulométrica	53
4.1.2 Porosidade, Área superficial, Massa Específica Aparente e Real	53
4.1.3 Área Superficial – Método BET	53
4.1.4 Microscopia Eletrônica de Varrimento (SEM)	53
4.2 Caracterização Química	54
4.2.1 Análise Elementar	54
4.2.2 Análise Termogravimétrica	54
4.2.3 Análise por Espectrometria de Infravermelho Próximo	54
4.2.4 Análise por Espectroscopia de Fotoeletrões de Raio X (XPS)	55

4.2.5	Determinação do pH no Ponto de Carga Zero (pH <sub>pcz</sub> )	55
4.2.6	Determinação da Basicidade e Acidez Totais	56
4.2.7	Determinação dos Grupos Funcionais à Superfície do Carvão Ativado	56
5	ENSAIOS DE SORÇÃO	57
5.1	Casca de Noz	57
5.1.1	Influência do pH	58
5.1.2	Estudos de Sorção	58
5.2	Carvão Ativado	58
5.2.1	Equilíbrio de Sorção – Sistema Monocomponente	58
5.2.2	Equilíbrio de Sorção – Planeamento Experimental <i>Box-Behnken</i>	59
5.2.3	Equilíbrio de Sorção – Sistema Bicomponente	60
5.2.4	Equilíbrio de Sorção – Planeamento Experimental Composto e Centrado (CCD)	60
5.3	Tratamento dos Resíduos Gerados	60
<b>CAPÍTULO III</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	61
1	MÉTODO ANALÍTICO	63
1.1	Desenvolvimento da Análise Cromatográfica por HPLC-DAD	63
1.2	Validação do Método Analítico para Análise dos Antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol	64
1.2.1	Parâmetros de Validação do Método Analítico	65
1.2.2	Avaliação da Incerteza Global	68
2	CASCA DE NOZ	73
2.1	Caracterização Química da Casca de Noz	73
2.2	Caracterização Física da Casca de Noz	81
2.3	Avaliação do Desempenho da Casca de Noz na Remoção dos Antibióticos em Estudo	83
3	CARVÃO ATIVADO PRODUZIDO	87
3.1	Produção de Carvão Ativado	87
3.2	Estudo das Condições de Ativação	88
3.3	Caracterização dos Carvões Ativados Produzidos	91
3.4	Caracterização do Carvão Ativado Produzido nas Condições Otimizadas	96
4	ESTUDOS DE ADSORÇÃO	99
4.1	Ensaio Preliminares	99
4.2	Estudos Cinéticos	102
4.2.1	Modelos de Reação	103
4.2.2	Modelos de Difusão	103
4.2.3	Resultados da Avaliação Cinética – Modelos de Reação	105
4.2.4	Resultados da Avaliação da Resistência Externa e Interna – Modelos de Difusão	109
4.3	Avaliação do Efeito de Alguns Parâmetros na Adsorção	111
4.3.1	Plano Fatorial <i>Box-Behnken</i>	111
4.3.1.1	Análise dos Resultados – Ensaio <i>Box-Behnken</i>	112
4.4	Isotérmicas de Equilíbrio Monocomponente	121
4.5	Isotérmicas de Equilíbrio Bicomponente	124
4.5.1	Modelos de Equilíbrio/Modelação Matemática	125

4.5.2	Ensaios de Equilíbrio Bicomponente	125
4.5.2.1	Ensaios de Equilíbrio Bicomponente – Efeito do pH	129
4.5.3	Avaliação do Efeito de Alguns Parâmetros na Adsorção em Sistema Bicomponente	132
4.5.3.1	Análise dos Resultados – Ensaios <i>Central Composite Design</i>	133
4.5.3.2	Otimização Simultânea – Função Desejabilidade	136
<b>CAPÍTULO IV</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	141
1	CONCLUSÕES	143
2	SUGESTÕES PARA TRABALHO FUTURO	146
<b>CAPÍTULO V</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	147
<b>ANEXOS</b>		173
Anexo A	Influência da Especificação dos Antibióticos nas Propriedades de Absorção no UV	175
Anexo B	Caracterização das Amostras de Casca de Noz Tratadas Quimicamente	178
Anexo C	Produção de Carvão Ativado	179
Anexo D	Ensaios Preliminares – Força iônica	182
Anexo E	Estudos Cinéticos	187
Anexo F	Desenho Experimental <i>Box-Behnken</i>	192
Anexo G	Estudo do Equilíbrio de Adsorção	197
Anexo H	Desenho Experimental Composto e Centrado (CCD – <i>Central Composite Design</i> )	210



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Origens e destino dos compostos farmacêuticos no ambiente.	5
Figura 2	Distribuição do consumo de antimicrobianos no grupo ATC J01 (antibacterianos para uso sistémico) na comunidade (setor primário) em Portugal, ano de referência 2010.	15
Figura 3	Tipo de tratamento de águas residuais em grandes cidades europeias expresso em % da carga total de efluentes gerados.	22
Figura 4	Representação esquemática da ionização dos grupos funcionais superficiais de um carvão ativado em função do pH do meio.	34
Figura 5	Diagramas de distribuição de espécies para Metronidazol e Sulfametoxazol em função do pH.	43
Figura 6	Casca de noz (material precursor) e carvão ativado produzido.	52
Figura 7	Espetros de absorção de Metronidazol e Sulfametoxazol obtidos na análise por HPLC-DAD de soluções padrão individuais a pH 6.	64
Figura 8	Curvas de calibração de Metronidazol e Sulfametoxazol e respetivos intervalos de confiança (95 %).	66
Figura 9	Incerteza Expandida estimada para a quantificação dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol, em função da concentração, por HPLC-DAD.	70
Figura 10	Contribuição das incertezas individuais para a incerteza global em função da concentração para Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b).	71
Figura 11	Análise termogravimétrica, em atmosfera inerte, para a casca de noz.	76
Figura 12	Espetro de infravermelho da casca de noz.	77
Figura 13	Desconvolução do pico C1s do espectro de XPS da casca de noz.	80
Figura 14	Curvas de área cumulativa (a) e de intrusão de mercúrio cumulativa e incremental (b).	82
Figura 15	Imagens da superfície da casca de noz obtidas por microscopia eletrónica de varrimento.	82
Figura 16	Distribuição granulométrica para a casca de noz (fração 250-500 $\mu\text{m}$ ).	83
Figura 17	Capacidade de sorção para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol a pH 2, 4 e 7.	84
Figura 18	Especiação e eficiência de remoção de Sulfametoxazol em função do pH.	85
Figura 19	Capacidades médias de remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) pelos carvões ativados produzidos.	89
Figura 20	Curvas de intrusão de mercúrio, cumulativa (a) e incremental (b), e distribuição de tamanho de microporos por adsorção de $\text{N}_2$ a 77 K (c).	93
Figura 21	Imagens da superfície dos carvões ativados produzidos: 700-1:1 (a e b); 800-1:1,5 (c e d); 900-1:1 (e e f).	95
Figura 22	Variação da concentração de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) em função do tempo para os carvões ativados produzidos.	96
Figura 23	Distribuição granulométrica para o carvão activado (fracção 710-1000 $\mu\text{m}$ )	97
Figura 24	Efeito do pH na remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b).	100
Figura 25	Modelos cinéticos de pseudo-1ª ordem e pseudo-2ª ordem em função do pH: Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) Efeito do pH na cinética de remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b): Modelos de pseudo - 1 e 2ª ordem.	106
Figura 26	Efeito da temperatura na cinética de remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b): Modelos de pseudo-1ª e 2ª ordem.	109

Figura 27	Gráficos de Pareto para (a) Metronidazol e (b) Sulfametoxazol.	115
Figura 28	Superfícies de resposta para o antibiótico Metronidazol: (a) efeito da concentração vs. pH a 20 °C; (b) efeito da temperatura vs. pH para $C_{in} = 40$ mg/L; (c) efeito da concentração vs. Temperatura para pH = 6.	116
Figura 29	Gráficos de contorno para o modelo quadrático ajustado aos dados experimentais obtidos para o antibiótico Metronidazol.	117
Figura 30	Superfícies de resposta para o antibiótico Sulfametoxazol: (a) efeito da concentração vs. pH a 20 °C; (b) efeito da temperatura vs. pH para $C_{in} = 40$ mg/L; (c) efeito da concentração vs. Temperatura a pH = 6.	119
Figura 31	Gráficos de contorno para o modelo quadrático ajustado aos dados experimentais obtidos para o antibiótico Sulfametoxazol.	120
Figura 32	Isotérmicas de equilíbrio de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) a pH 6 e 20 °C.	123
Figura 33	Isotérmicas de equilíbrio previstas pelos modelos monocomponente de Langmuir e Langmuir-Freundlich para o antibiótico Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) em sistema bicomponente.	128
Figura 34	Isotérmicas de equilíbrio previstas pelos modelos Fator P e Langmuir-Freundlich Expandido.	129
Figura 35	Gráficos de Pareto para (a) Metronidazol e (b) Sulfametoxazol.	135
Figura 36	Superfícies de resposta para o antibiótico Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b)	136
Figura 37	Superfície de resposta para a função Desejabilidade.	138
Figura 38	Gráficos de contorno para a Desejabilidade em função das variáveis independentes e em função das variáveis dependentes.	139

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1	Ocorrência do antibiótico Sulfametoxazol em diversos compartimentos ambientais hídricos.	17
Tabela 2	Ocorrência do antibiótico Sulfametoxazol em diversos compartimentos ambientais hídricos.	18
Tabela 3	Ocorrência do antibiótico Metronidazol em diversos compartimentos ambientais hídricos.	19
Tabela 4	Remoção do antibiótico Sulfametoxazol em sistemas convencionais de tratamento de águas residuais.	24
Tabela 5	Remoção do antibiótico Sulfametoxazol em sistemas convencionais de tratamento de águas residuais.	25
Tabela 6	Remoção do antibiótico Sulfametoxazol em sistemas convencionais de tratamento de águas residuais.	26
Tabela 7	Remoção do antibiótico Metronidazol em sistemas convencionais de tratamento de águas residuais.	28
Tabela 8	Resumo de algumas aplicações de carvão ativado na remoção dos antibióticos Sulfametoxazol e Metronidazol.	31
Tabela 9	Propriedades físico-químicas e estruturais dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol.	42
Tabela 10	Valores reais e codificados, adotados para os fatores temperatura e razão de impregnação.	52
Tabela 11	Domínio de estudo das variáveis selecionadas de acordo com o desenho <i>Box-Behnken</i> .	59
Tabela 12	Valores atribuídos para cada nível das variáveis de controlo consideradas no plano fatorial composto e centrado (CCD).	60
Tabela 13	Parâmetros do estudo de linearidade e limites analíticos obtidos, para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol, por HPLC-DAD.	65
Tabela 14	Estudo da precisão do método analítico para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol.	66
Tabela 15	Incerteza combinada e expandida estimada para a metodologia analítica.	69
Tabela 16	Análise elementar de casca de noz (base seca e sem cinzas).	75
Tabela 17	Análise da composição à superfície da casca de noz obtida por XPS e valor de $\text{pH}_{\text{pcz}}$ .	79
Tabela 18	Características texturais da casca de noz.	81
Tabela 19	Valores reais e codificados, adotados para os fatores temperatura e razão de impregnação.	88
Tabela 20	Desenho Experimental $2^2$ – Condições experimentais, resultados obtidos ( $q_{\text{exp}}$ ) e previstos pelo modelo ( $q_{\text{mod}}$ ).	90
Tabela 21	Parâmetros obtidos para os modelos de 1ª ordem ajustados aos sistemas em estudo.	91
Tabela 22	Características texturais dos carvões ativados produzidos e valor de pH no ponto de carga zero.	92
Tabela 23	Valores de acidez e basicidade total, grupos funcionais superficiais e pH no ponto de carga zero, obtidos para o carvão ativado.	97
Tabela 24	Parâmetros de ajuste dos modelos de pseudo-1ª ordem e pseudo- 2ª ordem obtidos para diferentes condições de pH.	106
Tabela 25	Parâmetros de ajuste dos modelos de pseudo-1ª ordem e pseudo-2ª ordem obtidos para diferentes temperaturas.	108
Tabela 26	Parâmetros de ajuste dos modelos de difusão interna (MDHS) e externa obtidos para diferentes valores de pH.	109
Tabela 27	Parâmetros de ajuste dos modelos de difusão interna (MDHS) e externa obtidos para diferentes temperaturas.	110
Tabela 28	Valores, reais e codificados, adotados para os fatores pH, temperatura e concentração inicial.	112
Tabela 29	Desenho Experimental <i>Box-Behnken</i> – condições experimentais, resultados obtidos ( $q_{\text{exp}}$ ) e previstos pelo modelo ( $q_{\text{mod}}$ ).	113

Tabela 30	Parâmetros obtidos para os modelos quadráticos reduzidos ajustados aos sistemas em estudo.	114
Tabela 31	Modelos considerados na representação das isotérmicas de equilíbrio de adsorção.	121
Tabela 32	Parâmetros dos modelos de Langmuir e Freundlich para os dados de equilíbrio obtidos a pH 6 e 20 °C.	122
Tabela 33	Parâmetros dos modelos de Langmuir-Freundlich e Redlich-Peterson para os dados de equilíbrio obtidos a pH 6 e a 20 °C.	122
Tabela 34	Modelos considerados na representação das isotérmicas de equilíbrio de adsorção em sistemas bicomponente.	126
Tabela 35	Parâmetros para os modelos Langmuir e Langmuir Freundlich em sistema mono e bicomponente (20 °C, pH 6).	127
Tabela 36	Parâmetros de ajuste e estatísticos para os modelos Fator P e Langmuir-Freundlich Expandido.	129
Tabela 37	Parâmetros de ajuste dos modelos monocomponente para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol em sistema bicomponente.	130
Tabela 38	Parâmetros de ajuste dos modelos Langmuir Expandido e Langmuir-Freundlich Expandido para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol em sistema bicomponente.	131
Tabela 39	Valores assumidos para os níveis no desenho experimental CCD.	132
Tabela 40	Planeamento fatorial CCD – condições experimentais, resultados obtidos ( $q_{exp}$ ) e previstos pelo modelo ( $q_{mod}$ ).	133
Tabela 41	Parâmetros obtidos para os modelos quadráticos ajustados aos sistemas em estudo.	134
Tabela 42	Resumo de alguns dos valores gerados para as respostas e índice global D.	137



## NOMENCLATURA

### Símbolos

$\varepsilon_{\text{Teórica}}$	Porosidade calculada com base nas massas específica aparente e real
$\varepsilon_{\text{Total}}$	Porosidade total
$C_{\text{eq}}$	Concentração de equilíbrio
$C_i$ e $C_t$	Concentração de analito inicial e no instante t
$D_p$	Difusividade efetiva do fluido nos poros
$D_s$	Difusividade superficial no sólido
$K$	Fator de expansão
$k_1$	Velocidade inicial do modelo de pseudo-primeira ordem
$k_2$	Velocidade inicial do modelo de pseudo-segunda ordem
$K_a$	Constante de dissociação
$K_F$	Constante de equilíbrio do modelo de Freundlich
$k_f$	Coeficiente de transferência de massa externo (no filme)
$k_f$	Constante do modelo de difusão externa
$K_L$	Constante de equilíbrio do modelo de Langmuir
$K_{LF}$	Constante de equilíbrio do modelo de Langmuir-Freundlich
$K_{ow}$	Coeficiente de partição octanol/água
$K_{RP}$	Constante modelo de Redlich-Peterson
$m$	Massa de adsorvente
$n_F$	Constante relacionada com a intensidade de adsorção
$n_{LF}$	Parâmetro empírico adimensional
$pH_{pcz}$	pH no ponto de carga zero
$Q_e$	Quantidade de equilíbrio do soluto na fase sólida
$Q_L$	Capacidade determinada pelo modelo de Langmuir
$Q_{LF}$	Capacidade máxima determinada pelo modelo de Langmuir- Freundlich
$q_{\text{max}}$	Capacidade máxima da monocamada (modelo de Langmuir)
$q_t$	Capacidade de adsorção do soluto na fase sólida
$R$	Raio médio das partículas
$R^2$	Coeficiente de determinação
$s^2$	Variância
$t$	Tempo
$T$	Temperatura
$U$	Incerteza global expandida
$u_c$	Incerteza padrão combinada
$x_i$	Variável codificada
$\rho$	Massa específica

## Abreviaturas e siglas

ACN	Acetonitrilo
AIA	Avaliação do Impacto Ambiental
ANOVA	Análise de variância ( <i>Analysis of Variance</i> )
BET	Modelo de Brunauer-Emmett-Teller
CCD	Desenho composto centrado ( <i>Central Composite Design</i> )
CE <sub>50</sub>	Concentração efetiva mediana
COD	Carbono orgânico dissolvido
CV	Coeficiente de variação
DAD	Detetor de díodos ( <i>Diode Array Detector</i> )
DDD	Dose Diária Definida ( <i>Defined Daily Dose</i> )
DOE	Planeamento fatorial ou desenho experimental ( <i>Design of Experiments</i> )
DQA	Diretiva Quadro da Água
EARS	Rede Europeia de Vigilância da Resistência aos Antimicrobianos ( <i>European Antimicrobial Resistance Surveillance</i> )
ESAC	Rede Europeia de Monitorização do Consumo de Antimicrobianos ( <i>European Surveillance of Antimicrobial Consumption</i> )
ETAR	Estação de tratamento de água residual
FTIR	Espetroscopia de infravermelho com transformada de Fourier ( <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> )
GAC	Carvão ativado granulado ( <i>Granular Activated Carbon</i> )
HPLC-DAD	Cromatografia líquida de elevada eficiência hifenada com detetor de díodos
LD	Limite de deteção
LQ	Limite de quantificação
MDHS	Modelo de difusão homogénea no sólido
MRC	Materiais de Referência Certificados
MSE	Erro quadrático médio ( <i>Mean Squared Error</i> )
NOEC	Concentração sem efeito observado ( <i>No Observed Effect Concentration</i> )
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAC	Carvão ativado em pó ( <i>Powdered Activated Carbon</i> )
PPCPs	Produtos Farmacêuticos e de Cuidado/Higiene Pessoal ( <i>Pharmaceuticals and Personal Care Products</i> )
RMSE	Raiz do erro quadrático médio ( <i>Root Mean Squared Error</i> )
SEM	Microscopia de varrimento eletrónico ( <i>Scanning Electron Microscopy</i> )
TG	Termogravimetria
TRH	Tempo de retenção hidráulica
TRS	Tempo de retenção de sólidos
UE	União Europeia
UV	Ultravioleta
VIM	Vocabulário Internacional de Metrologia
VTG	Vitelogenina ( <i>Vitellogenin</i> )
XPS	Espetroscopia de fotoeletrões de Raios-X ( <i>X-Ray Photoelectron Spectroscopy</i> )

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUÇÃO**



## 1 OS RECURSOS HÍDRICOS

A água é um recurso de características únicas, circula através do ciclo hidrológico, depende de influências climáticas e a sua disponibilidade pode variar no tempo e no espaço. Estabelece ligação entre diferentes regiões e outros meios ambientais mas pode também transferir os impactos de um meio ambiental ou de uma região para outro(a), impondo necessidades explícitas de integração e de cooperação transnacional [1].

A Diretiva-Quadro da Água (Diretiva 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de outubro de 2000) é o principal instrumento da Política da União Europeia relativo à água, estabelecendo um quadro de ação comunitária para a proteção das águas de superfície interiores, das águas de transição, das águas costeiras e das águas subterrâneas. Esta diretiva introduziu uma nova abordagem legislativa na gestão e proteção dos recursos hídricos, baseada em formações hidrológicas e geográficas naturais (as bacias hidrográficas) e não em fronteiras nacionais ou políticas. Estabeleceu como prioritária a coordenação das diversas políticas da União Europeia (UE) e determinou um calendário de ação preciso, segundo o qual todos os recursos hídricos da UE deveriam ser repostos em boas condições até 2015.

O terceiro relatório de acompanhamento da aplicação da Diretiva-Quadro, apresentado em 2012, revela contudo que dificilmente se atingirá o *bom estado ecológico* em 2015, conforme as metas estabelecidas pela Diretiva-Quadro da Água<sup>1</sup> [2]. Reconhecendo que a qualidade química das massas de água melhorou muito nos últimos 30 anos, o relatório indica que a situação atual relativa às substâncias prioritárias, introduzidas pela Diretiva-Quadro da Água, está aquém dos objetivos. O estado químico de muitas massas de água é considerado desconhecido e, segundo o relatório, os primeiros planos de gestão de bacia hidrográfica mostram graus diversos de execução, o que dificulta a comparação das avaliações de estado químico efetuadas pelos vários Estados-Membros [2].

Os ecossistemas terrestres e de água doce da EU permanecem, apesar da diminuição das cargas poluentes, afetados. Com aproximadamente 600 milhões de pessoas, a Europa é uma das regiões mais densamente povoadas do mundo, onde cerca de 75 % da população habita em zonas urbanas. O crescimento demográfico, a urbanização e o desenvolvimento económico fazem aumentar, em toda a Europa, a procura de água doce nas zonas urbanas [3].

---

<sup>1</sup> Em conformidade com o artigo 18.4 da Diretiva-Quadro da Água, a Comissão deverá publicar um relatório (quarto relatório de acompanhamento), ao Parlamento Europeu e ao Conselho, sobre a aplicação da diretiva o mais tardar até 22 de Dezembro de 2015. ([http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/impl\\_reports.htm](http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/impl_reports.htm))

## 2 CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS

A agricultura e o meio ambiente urbano são as principais fontes poluidoras dos recursos hídricos. Não obstante as melhorias que se verificaram nos últimos anos, as emissões contínuas de uma gama alargada de poluentes, tais como: nutrientes (azoto e fósforo), fertilizantes, pesticidas, matéria orgânica, sedimentos e micro-organismos patogénicos, produtos químicos industriais e domésticos, metais e produtos farmacêuticos comprometem o estado das águas superficiais e subterrâneas [3].

Garantir a disponibilidade de água de boa qualidade é indispensável mas representa um enorme desafio face aos elevados padrões de consumo, de utilização de recursos e produção de bens. A aplicação das diretivas relativas à qualidade da água destinada ao consumo humano (Diretiva 2008/105/CE)<sup>2</sup> e ao tratamento de águas residuais urbanas (Diretiva 91/271/CE)<sup>3</sup> permitiram reduzir as descargas de algumas substâncias poluentes com impacto nos ecossistemas e na saúde pública.

No entanto, existem muitas outras substâncias químicas que são continuamente libertadas e para as quais não há informação adequada nem regulamentação. Não é conhecido o impacto associado a muitas destas substâncias, pois ignora-se, para uma vasta maioria, a forma como circulam no ambiente, se são acumuladas, dispersas ou transformadas, e em que medida afetam os organismos vivos. Estes poluentes, correntemente classificados como emergentes, incluem um grupo diverso de substâncias, entre as quais têm merecido particular destaque os produtos farmacêuticos e de cuidado ou higiene pessoal (PPCPs - *Pharmaceuticals and Personal Care Products*) [4,5].

### 2.1 PRODUTOS FARMACÊUTICOS NO AMBIENTE

É hoje consensual que um largo espectro de fármacos são continuamente libertados e introduzidos no meio ambiente em consequência da sua extensa e intensiva utilização na medicina humana, veterinária e até pelas indústrias agrícola e alimentar [6–9]. A presença de diversas classes de fármacos e/ou dos seus metabolitos tem sido confirmada, por diversos estudos, em águas subterrâneas, de superfície, residuais e reservatórios de água potável, solos e sedimentos [7,10–18]. Os potenciais impactos associados à acumulação e presença destas substâncias, que são especificamente desenvolvidas/concebidas para produzirem efeitos biológicos, no meio ambiente tem suscitado preocupação na comunidade científica e nos responsáveis políticos [4–8,19–22]. Este conjunto diverso de substâncias são, pela natureza da sua função, indispensáveis nas sociedades atuais e, neste sentido, bastaria considerar o aumento da esperança média de vida, para compreender a sua importância.

---

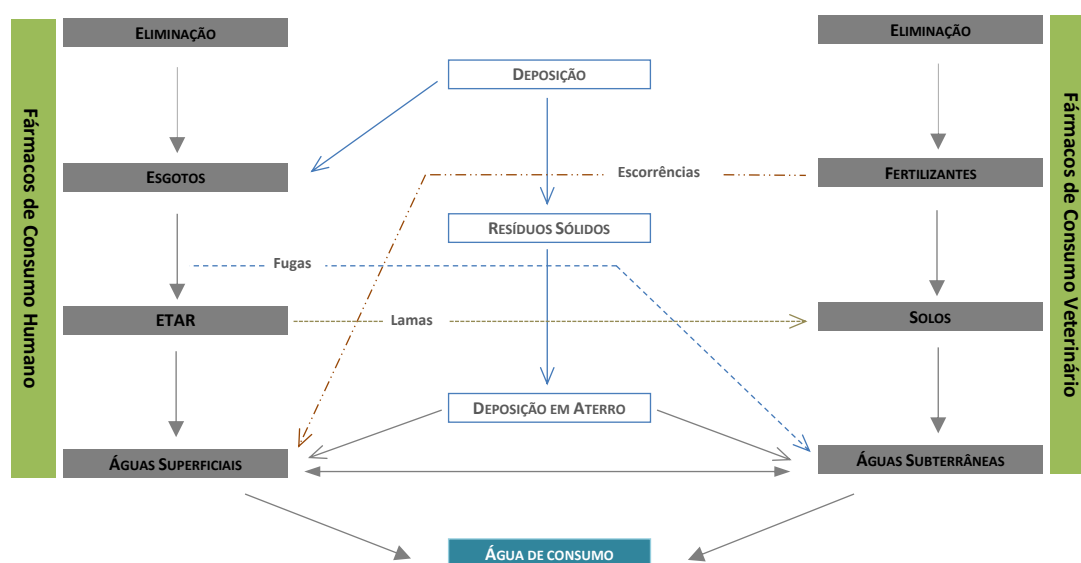
<sup>2</sup> Diretiva 2008/105/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de Dezembro de 2008 que estabelece as normas de qualidade ambiental no domínio da política da água.

<sup>3</sup> Diretiva 91/271/CEE do Conselho Europeu, de 21 de Maio de 1991 que regula o tratamento das águas residuais urbanas.

Sendo certo que será sempre possível promover um melhor uso dos fármacos, a sua completa eliminação não é, à luz dos conhecimentos atuais, possível. De facto, a produção e consumo destas substâncias regista aumentos contínuos a nível global. O valor médio para consumo total de fármacos, observado nos 27 países da EU e na década de 2000 a 2010, aumentou de 911,6 DDD (Dose Diária Definida por 1000 habitantes) para 1306,0 DDD. Esta é uma tendência comum aos 27 países da UE. Portugal registou, nesta década, uma variação de 881,9 DDD para 1232,8 DDD [23].

### 2.1.1 Fontes de Emissão e Vias de Entrada no Ambiente

A introdução de medicamentos no meio ambiente decorre por meio de diversas fontes (Figura 1). Após administração, eles são absorvidos, metabolizados e finalmente excretados, quer na forma inalterada, quer como metabolitos [8,24,25]. Processos de remoção, geralmente incompletos, em estações de tratamento de águas residuais urbanas significam que os resíduos destas substâncias ou os seus produtos de transformação estão presentes nos efluentes tratados e descarregados nas águas recetoras. Os efluentes das estações de tratamento de águas residuais (ETAR) representam, deste modo, a mais importante via de entrada de fármacos de consumo humano nos meios recetores hídricos [6,7,10,26–40].



**Figura 1** Origens e destino dos compostos farmacêuticos no ambiente (adaptado de [5]).

Para além dos efluentes, as lamas produzidas nas ETAR são também suscetíveis de ter elevados níveis destes poluentes que, por aplicação nos solos, podem, por sua vez, contaminar os aquíferos, para lá da própria contaminação direta dos solos [16,28,31,33]. Os efluentes hospitalares são obviamente outra importante via de entrada destas substâncias no ambiente, embora em menor quantidade, não raras vezes apresentam maior

carga poluente [10,12,14,36]. Outras vias de entrada no meio ambiente, embora em menor escala, são as resultantes de lixiviações de resíduos depositados em aterro [5,26].

Os produtos farmacêuticos veterinários fazem a sua entrada no ambiente principalmente através da contaminação dos solos [8,9,17,41]. Após o uso no tratamento de animais, estes fármacos e os seus metabolitos, podem ser introduzidos diretamente nos solos (no caso de animais ao ar livre/em regime de pastoreio) ou através da aplicação de adubos orgânicos e lamas como fertilizantes. Estas substâncias podem posteriormente atingir, por lixiviação ou infiltração, águas de superfície ou subterrâneas, representando uma via adicional de contaminação dos recursos hídricos [9,38,41].

Adicionalmente, os fármacos de aplicação veterinária podem ainda contaminar os recursos hídricos no âmbito das práticas de aquacultura e aqui por aplicação direta no meio aquoso [41,42].

A poluição de natureza industrial tem sido considerada negligenciável, particularmente na União Europeia e Estados Unidos da América, em virtude da regulamentação legislativa e do elevado valor económico das substâncias ativas [14,41]. Dados recentemente publicados parecem contrariar este pressuposto especialmente para unidades farmacêuticas localizadas em países asiáticos. Concentrações de fármacos, na ordem das mg/L, foram observadas em efluentes industriais e nos meios hídricos circundantes (rios e lagos) na Índia e China [43,44].

A contribuição das unidades industriais farmacêuticas, para a carga poluente dos efluentes das ETAR, pode contudo estar a ser subestimada mesmo em países desenvolvidos e com forte regulação sob a produção e proteção ambiental. Um estudo de monitorização conduzido em três ETAR nova-iorquinas, de 2004 a 2009, revelou concentrações de fármacos entre a 10 e 1000 vezes superiores aos valores normalmente observados em efluentes de ETAR sem contribuições de águas residuais de unidades farmacêuticas [45].

### 2.1.2 Impactos Ambientais

Os fármacos são, devido às suas características intrínsecas, obrigatoriamente submetidos a um longo processo de testes antes da autorização para entrada/introdução no mercado. São seguramente dos milhares de produtos químicos que nos rodeiam, os que têm sido alvo do mais elevado controlo de qualidade, eficácia e segurança. Contudo, a avaliação dos riscos esteve, até recentemente, focada na função terapêutica e, a avaliação dos potenciais impactos para o ambiente não constituía uma exigência regulatória (Diretiva 2004/27/CE e Diretiva 2004/28/CE)<sup>4</sup>.

---

<sup>4</sup> Diretiva 2004/27/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 31 de Março de 2004 que altera a Diretiva 2001/83/CE que estabelece um código comunitário relativo aos medicamentos para uso humano. Diretiva 2004/28/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 31 Março de 2004 que altera a Diretiva 2001/82/CE que estabelece um código comunitário relativo aos medicamentos veterinários.



No entanto, as suspeitas sobre o potencial poluidor dos fármacos e dos seus metabolitos remontam à década de 70. A presença de ácido salicílico e de clorofenoxisobutirato (metabolito do clofibrato – antilipídico), no efluente de uma estação de tratamentos de águas residuais no *Big Blue River* em Kansas City, foi reportada em 1977, naquele que é considerado um dos primeiros estudos sobre a contaminação ambiental por substâncias farmacologicamente ativas [7,46].

Seriam, contudo, necessários mais 15 anos para que esta nova classe de poluentes voltasse a ser, inadvertidamente, objeto de estudo. No início da década de 90, um grupo de investigadores alemães, ao procurar avaliar a contaminação de águas por herbicidas, detetaram a presença de uma substância que não conseguiram, imediatamente, identificar e que se revelaria ser o ácido clofíbrico [47,48]. Estes estudos representaram um ponto de viragem ao colocar, definitivamente, a questão da presença no ambiente de fármacos, na agenda, em primeiro lugar da comunidade científica e posteriormente dos responsáveis políticos e da opinião pública [4–7,21,22].

Diversos trabalhos, na sequência destes primeiros estudos, têm corroborado a presença de compostos farmacologicamente ativos, das mais variadas classes terapêuticas (hormonas, antibióticos, antilipídicos, analgésicos, anti-inflamatórios não esteroides, antidepressivos, antiepiléticos, antineoplásicos, anti-histamínicos, etc), em diferentes compartimentos ambientais [9,12,28,29,31,34–36,38–40,46,49,50]. Sendo, frequentemente, analisadas amostras contendo dezenas destas substâncias, em concentrações compreendidas entre os nanogramas e os microgramas por litro [31,34,35,46,49]. Por oposição aos designados poluentes convencionais, de natureza persistente, nem todos os fármacos podem ser considerados intrinsecamente persistentes no ambiente. No entanto, a sua introdução contínua, ainda que em doses relativamente pequenas, permite perpetuar a sua existência ao longo de todo o ciclo de vida dos organismos [7].

Contudo, a grande maioria dos dados publicados sobre a ecotoxicidade e avaliações de risco para produtos farmacêuticos são baseados em estudos de toxicidade aguda de curta duração [51–54]. Esta lacuna e a crescente preocupação com os possíveis efeitos ambientais resultantes da exposição contínua a baixos níveis de fármacos destacaram a necessidade de desenvolver e implementar procedimentos de avaliação da toxicidade crónica em organismos aquáticos [4,7,8,26,52]. As lacunas são ainda maiores na avaliação do impacto de misturas de fármacos. Este é considerado, quer pela complexidade técnica, quer pelos custos económicos, um dos aspetos mais críticos [22,52,55]. Os dados disponíveis indiciam, para a maioria das classes terapêuticas avaliadas, uma baixa probabilidade de exercerem efeitos tóxicos agudos, em virtude das concentrações ambientais em que frequentemente ocorrem [51,54]. Mas não permitem eliminar a possibilidade de se manifestarem efeitos a longo prazo e, em particular, a ocorrência de efeitos aditivos, para concentrações ambientalmente relevantes (ng/L - µg/L), tem sido documentada em alguns estudos, sobre misturas de fármacos [4,51,56].

A avaliação do risco torna-se ainda mais sensível quando se reconhece que a ocorrência de efeitos colaterais imprevistos e desconhecidos, na ação terapêutica de um determinado fármaco, é frequente [7]. As possíveis interações sobre organismos não-alvo, que venham a ser expostos a estas substâncias, são ainda menos compreendidas e, muitas vezes, totalmente desconhecidas [7,51].

O declínio de algumas populações asiáticas de abutres, por exposição ao anti-inflamatório diclofenac [57–60] constitui um exemplo paradigmático destes efeitos imprevisíveis. É considerado um dos mais e melhor documentados estudos sobre impactos ambientais, por exposição accidental a fármacos, e para o qual foi possível estabelecer a relação causa-efeito [22]. Valores estimados de 10 a 40 milhões de abutres asiáticos terão sucumbido, por falência renal, na sequência do consumo de carcaças de animais aos quais tinha sido administrado o anti-inflamatório diclofenac. A ameaça de extinção destas espécies levou, em 2006, à interdição do uso veterinário do diclofenac, na Índia, Nepal e Paquistão [57–61].

Um fator decisivo que facilitou a ligação entre a diminuição drástica da população de abutres com exposição ao diclofenac foi, simultaneamente, a extensão do declínio da população e o efeito tóxico agudo do fármaco. Mas a ligação causa-efeito demorou mais de uma década a ser estabelecida. Contudo, considera-se como muito improvável que outros fármacos possuam efeitos agudos tão óbvios sobre a vida selvagem e poderá, consequentemente, ser extremamente difícil relacionar potenciais efeitos crónicos, sobre a vida selvagem, com um produto farmacêutico específico ou grupo de fármacos com o mesmo mecanismo de ação [7,52,61].

A exposição a compostos com o potencial de perturbar o funcionamento normal do sistema endócrino (desreguladores endócrinos) constitui um outro exemplo, bem documentado, e onde também foi possível estabelecer relações de causa-efeito [22]. Um grupo alargado de substâncias químicas, (pesticidas organoclorados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, plastificantes, dioxinas) e onde se incluem dois fármacos (17 $\alpha$ -etinilestradiol - estrogénio sintético e o 17 $\beta$ -estradiol - estrogénio natural), podem originar alterações no crescimento, desenvolvimento ou na reprodução de organismos aquáticos. Diversos estudos documentam, para as concentrações ambientais frequentemente observadas destas hormonas, a diminuição na fertilidade e no sucesso reprodutivo, feminização e indução da vitelogenina<sup>5</sup> (VTG) em machos, degeneração dos ovários e alterações nas gónadas e rins [51,62–64]. A questão do impacto, no ambiente, dos contraceptivos orais, não é recente, tendo sido abordada, pela primeira vez, no início da década de 70 do século XX. Curiosamente, foi também durante esta década que biólogos britânicos começaram a relatar a existência de percentagens anormalmente elevadas de hermafroditismo nos peixes.

---

<sup>5</sup> A vitelogenina é uma proteína complexa, precursora para a produção de vitelo em todos os vertebrados ovíparos e é sintetizada pelo fígado em resposta aos estrogénios endógenos. Em indivíduos imaturos ou em machos, a codificação do gene para esta proteína não existe, ou é muito fracamente expressa. A presença desta proteína no sangue destes organismos constitui por isso um biomarcador de exposição, pois sua síntese depende da presença de estrogénios [62].

Mas só na primeira década do século XXI, é que foi possível estabelecer, com certeza científica razoável, a ligação entre a feminização de peixes macho e a presença, em particular, de 17 $\alpha$ -etinilestradiol no ambiente aquático [62,64–66].

Estes dois exemplos são particularmente ilustrativos do risco que a presença de fármacos no ambiente pode acarretar, quer pela sua imprevisibilidade, complexidade e ainda pelo tempo que pode decorrer entre a percepção de um impacto adverso e a descoberta da(s) causa(s).

A presença de fármacos no meio aquático poderá, adicionalmente às óbvias preocupações com a exposição dos organismos que integram esses ecossistemas, representar um risco do ponto de vista de saúde pública [14,53]. A exposição humana, não intencional a estas substâncias, decorre, principalmente, do consumo de água e/ou de alimentos. Os estudos publicados, até à data, indicam que, em ambos os casos, a exposição não apresenta risco significativo para a saúde humana e mesmo para os piores cenários, os níveis de exposição encontram-se abaixo dos limites de segurança [5,53,67–69].

A presença, em concentrações muito baixas (significativamente inferiores às doses terapêuticas), poderá, contudo, não ser suficiente para garantir níveis seguros de exposição para os seres humanos. O impacto resultante da exposição a misturas de fármacos, tal como o já descrito para organismos aquáticos, pode ser crítico, pois desconhecem-se as interações que poderão ocorrer. Igualmente desconhecidos são os efeitos da exposição de indivíduos sensíveis (recém-nascidos, crianças, grávidas, portadores de doença crónicas, etc) da população humana. As doses terapêuticas e tóxicas podem variar de forma significativa entre os subgrupos da população humana considerados mais suscetíveis [4,5,14,53].

As características específicas destas substâncias fazem com que a abordagem tradicional de avaliação de risco seja particularmente complexa e possa, por isso, tornar-se, senão inaplicável, pelo menos ineficaz. A percepção de que algumas destas substâncias possam exercer efeitos em fases de vida específicas mas cujas consequências só se tornam aparentes mais tarde, constitui um dos aspetos mais críticos. Este atraso na manifestação de efeitos, que se pode estender por várias décadas, complica significativamente a tentativa de estabelecer relações causais entre exposição e efeito [63].

### **2.1.3 Impacto Ambiental – Legislação**

As informações sobre fármacos, nas águas superficiais e subterrâneas europeias, são ainda limitadas. Na ausência de programas de monitorização de rotina, a recolha de dados tem sido realizada, de forma voluntária e casuística. Estas limitações, conjugadas com as crescentes preocupações quanto aos potenciais efeitos adversos, tem vindo a reforçar a necessidade de adotar abordagens e políticas mais amplas, no que respeita à gestão do risco que a poluição das águas e solos, por resíduos farmacêuticos, pode constituir [3–5,21].

Ao contrário dos outros poluentes, cuja ocorrência no meio ambiente tenderá a diminuir, por meio das restrições legais adotadas, os fármacos poderão, a verificarem-se as tendências de consumo e na ausência de medidas mitigadoras, ver as suas concentrações aumentadas [46].

Neste contexto a Avaliação do Impacto Ambiental (AIA) é atualmente, no espaço na União Europeia (UE), uma exigência legal (Diretivas 2004/27/CE e 2004/28/CE)<sup>6</sup> que acompanha o pedido de autorização de qualquer novo medicamento. Nenhum fármaco de uso humano pode, contudo, ser recusado com base na avaliação do impacto ambiental. Porém, no caso dos medicamentos de uso veterinário, esta deverá fazer parte da análise risco-benefício e a comercialização do fármaco pode ser recusada em função da avaliação do impacto ambiental realizada.

Não existe, no entanto, um quadro formal ou mecanismo de revisão da AIA ou de monitorização de possíveis efeitos adversos no ambiente, após a introdução no mercado de um novo fármaco [61]. Esta necessidade é de certa forma reconhecida pelo Regulamento Europeu nº 1235/2010 e pela Diretiva 2010/84/UE<sup>7</sup>, onde se afirma “A poluição das águas e dos solos por resíduos farmacêuticos constitui um problema ambiental novo. Os Estados-Membros deverão estudar medidas para fiscalizar e avaliar o risco de efeitos desses medicamentos para uso humano sobre o ambiente, incluindo aqueles que possam ter incidência na saúde pública”.

Simultaneamente, a UE legislou no sentido dos Estados-Membros implementarem sistemas de recolha adequados para os medicamentos excedentários ou que tenham expirado (Diretivas 2004/27/CE e 2004/28/CE). Estes sistemas de retoma constituem um meio adicional de redução da presença, no meio ambiente, de fármacos que eram diretamente introduzidos nos sistemas de esgotos ou depositados nos resíduos sólidos urbanos. Em Portugal, o cumprimento destas disposições legais é assegurado pela VALORMED<sup>8</sup>, que no âmbito das suas funções, deve assegurar a recolha de resíduos de embalagens de medicamentos e produtos equiparados recolhidos em farmácias comunitárias, hospitalares, resíduos de embalagens de venda provenientes das devoluções das farmácias e distribuidores, bem como resíduos de embalagens de medicamentos e produtos de uso veterinário.

---

<sup>6</sup> Diretiva 2004/27/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 31 de março de 2004 que altera a Diretiva 2001/83/CE que estabelece um código comunitário relativo aos medicamentos para uso humano. Diretiva 2004/28/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 31 março de 2004 que altera a Diretiva 2001/82/CE que estabelece um código comunitário relativo aos medicamentos veterinários.

<sup>7</sup> Diretiva 2010/84/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 15 de dezembro de 2010 que altera, no que diz respeito à farmacovigilância, a Diretiva 2001/83/CE que estabelece um código comunitário relativo aos medicamentos para uso humano. Regulamento (UE) Nº 1235/2010 do Parlamento Europeu e do Conselho de 15 de dezembro de 2010 que altera, no que diz respeito à farmacovigilância dos medicamentos para uso humano, o Regulamento (CE) nº 726/2004 que estabelece procedimentos comunitários de autorização e de fiscalização de medicamentos para uso humano e humano e veterinário e que institui uma Agência Europeia de Medicamentos, e o Regulamento (CE) nº 1394/2007 relativo a medicamentos de terapia avançada.

<sup>8</sup> A VALORMED (Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos, Lda) foi licenciada pelos Ministérios do Ambiente e da Economia para a gestão do Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens de Medicamentos – SIGREM. Em 2011 foram recolhidas 853,8 toneladas de resíduos de embalagens de medicamentos, o que representou um acréscimo de 1,9 % relativamente ao ano anterior. (<http://www.valormed.pt/>)

A promoção de um melhor uso dos fármacos poderá também contribuir para a diminuição da exposição ambiental mas é uma questão particularmente sensível pois devem ficar sempre asseguradas as legítimas expectativas de acesso, sem restrições, aos medicamentos.

A rede europeia de monitorização do consumo de antimicrobianos (ESAC - *European Surveillance of Antimicrobial Consumption*)<sup>9</sup> constitui um bom exemplo do que poderá ser feito nesta área. Na base da sua criação, esteve a preocupação com a crescente emergência de resistência aos antimicrobianos e consequente perda de eficácia destes fármacos no combate e controlo de infeções. Desde a sua implementação, foi possível compreender os padrões de consumo e adotar diversas iniciativas de sensibilização, quer dos profissionais de saúde (responsáveis pela prescrição) quer da opinião pública para a necessidade urgente de fazer um uso racional destas substâncias [70].

Inevitavelmente a par da adoção de medidas de carácter preventivo, na gestão do risco à exposição ambiental a fármacos, deverão ser consideradas medidas de correção. A abordagem de fim-de-linha é a mais onerosa, mas indispensável para reduzir os níveis de poluição [6]. Os dados disponíveis confirmam, que os sistemas de tratamento de águas residuais convencionais, não são eficientes na eliminação destas substâncias, para as quais não foram de facto pensados. É consensual que só a implementação de tratamentos avançados (tratamentos terciários) permitirão reduzir as emissões para níveis inferiores aos atuais limites de deteção analíticos (na ordem dos ng/L). Os encargos económicos e a ausência de conhecimento científico, que permita avaliar o binómio custo/benefício, tem impedido a adoção destas medidas [3–5,21,22].

O primeiro passo neste sentido (que vinha a ser sugerido há algum tempo, em relatórios da Agência Europeia do Ambiente [4,22]) foi dado muito recentemente pela União Europeia, no âmbito da revisão da Diretiva-Quadro da Água<sup>10</sup> [71].

Três compostos farmacêuticos (dois componentes hormonais de pílulas contraceptivas, 17 $\alpha$ -etinilestradiol e 17 $\beta$ -estradiol, e anti-inflamatório diclofenac) foram avaliados com vista à sua inclusão na lista de substâncias prioritárias. A proposta foi rejeitada com base em preocupações/argumentos de natureza socioeconómicas, de coerência legislativa e de justificação científica na priorização das substâncias [21]. Estes três fármacos foram, contudo, incluídos numa “lista de vigilância” (*watch list*) que foi instituída, nesta revisão da Diretiva-Quadro da Água, e que pode ser encarada como um passo intermédio para uma futura inclusão na lista de substâncias prioritárias.

<sup>9</sup> O ESAC é um projeto europeu coordenado, desde 2001, pela Universidade de Antuérpia, na Bélgica. Participam neste projeto 34 países, entre os quais todos os 27 Estados Membros da União Europeia (UE). Esta rede recolhe dados sobre a utilização de medicamentos para o tratamento de infeções causadas por bactérias (antibióticos), vírus (antivíricos) e fungos (antifúngicos). (<http://app.esac.ua.ac.be/public/>)

<sup>10</sup> A nova diretiva altera duas diretivas em vigor: a Diretiva 2000/60/CE, que estabelece uma estratégia a nível da UE contra a poluição da água, envolvendo a identificação de substâncias prioritárias; a segunda diretiva alterada é 2008/105/CE diretiva relativa a normas de qualidade ambiental no domínio da política da água, que estabelece as normas que devem ser respeitados em relação às substâncias prioritárias.

Com a entrada em vigor da diretiva revista, os Estados-Membros, ficam obrigados a implementar medidas para a monitorização das substâncias que integram a “lista de vigilância”. Os dados recolhidos irão suportar a futura revisão da diretiva e atualização das listas de substâncias prioritárias e de vigilância [71].

A introdução deste novo mecanismo é considerada, pela UE, essencial na obtenção de informação específica e sistemática, sobre a concentração de um grupo particular de substâncias químicas, no ambiente aquático, com foco sobre os poluentes emergentes. Reconhecendo-se que os dados atualmente disponíveis são insuficientes para suportar o processo de avaliação de risco ambiental [71].

A diretiva revista contempla, ainda, um artigo com disposições específicas para as substâncias farmacêuticas no qual a Comissão Europeia assume o compromisso de desenvolver uma abordagem estratégica para a poluição da água, por substâncias farmacêuticas. E no qual se afirma, “Essa abordagem estratégica deve, quando adequado, incluir propostas que permitam, na medida do necessário, que os impactos ambientais dos medicamentos sejam tidos em conta de forma mais eficaz no processo de colocação de medicamentos no mercado. No âmbito dessa abordagem estratégica, a Comissão deverá, propor medidas a serem tomadas na União e/ou dos Estados-Membros, conforme o caso, para abordar os possíveis impactos ambientais de substâncias farmacêuticas, particularmente aqueles que se refere o artigo 8.º B (1), com vista a reduzir as descargas, emissões e perdas dessas substâncias no meio aquático, tendo em conta as necessidades de saúde pública e da relação custo-eficácia das medidas propostas” [71].

### 3 OS ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos, a par dos fármacos com capacidade de desregulação endócrina (contracetivos), foram desde muito cedo identificados como uma categoria específica de micropoluentes com potencial de provocar impactos significativos no ambiente [7,41,72–74]. A preocupação com a presença ambiental destes fármacos não esteve, inicialmente, focada na sua ecotoxicidade para os organismos a eles expostos mas, muito particularmente, na possibilidade de exercerem pressão seletiva sobre as comunidades de micro-organismos, favorecendo o aparecimento e a propagação de bactérias resistentes. Esta é ainda a principal questão que a presença de antibióticos no ambiente suscita pelas implicações que pode ter na saúde pública [8,12,75–77].

#### 3.1 A RESISTÊNCIA E O CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS

A gradual e contínua perda de eficácia dos antibióticos representa atualmente, para as diversas entidades públicas com responsabilidades na área da saúde, especialistas e profissionais, uma séria ameaça à medicina tal como a conhecemos hoje [75]. Os agentes antimicrobianos são a componente chave no tratamento de infeções e o seu advento teve um impacto profundo na saúde pública e no avanço da medicina em áreas tão importantes como a quimioterapia e o transplante de órgãos [75,78].

Sob o lema, *Combat drug resistance: no action to day means no cure tomorrow*, a Organização Mundial de Saúde (OMS) fez um alerta global, no âmbito da celebração do dia Mundial da Saúde de 2011, para este tópico [78]. A emergência de estirpes microbianas multirresistentes atingiu níveis sem precedentes estimando-se, que na Europa, sejam responsáveis por cerca de 400 000 infeções e mais de 25 000 mortes por ano [75,79].

Os últimos dados internacionais, publicados no relatório da Rede Europeia de Vigilância da Resistência aos Antimicrobianos (EARS – *European Antimicrobial Resistance Surveillance*), referentes ao ano de 2011, registam três tendências distintas (no período compreendido entre 2008 e 2011) para o grupo de sete bactérias patogénicas que constituem, atualmente, o maior risco, do ponto de vista de saúde pública. Para três destes micro-organismos, verificou-se uma preocupante subida da resistência aos antimicrobianos, observando-se, para os restantes quatro patogénicos monitorizados, uma estabilização e em alguns países, até mesmo uma ligeira descida [80]. De um modo geral, as percentagens de resistência são mais baixas nos países do Norte e mais elevadas no Sul, como é o caso de Portugal. Estas diferenças geográficas parecem ser o reflexo de diferentes práticas no controlo de infeções e na utilização de antimicrobianos [80–82].

A maior mobilidade global de bens e pessoas potencia a propagação de agentes infecciosos e coloca desafios crescentes, no controlo e rápida deteção de organismos patogénicos, que só podem ser enfrentados a uma escala transnacional. Um exemplo mais recente e paradigmático desta mobilidade foi a descoberta de bactérias portadoras de uma enzima, a NDM-1 (sigla para *New Delhi metallo-beta-lactamase*), que lhes confere

resistência aos antibióticos mais eficientes, atualmente disponíveis. Estas bactérias multirresistentes, detetadas pela primeira vez na Grã-Bretanha, foram transportadas por pacientes que fizeram tratamentos médicos ou estiveram na Índia e Paquistão. A sua disseminação é já global, tendo sido detectadas, na América do Norte e do Sul, Ásia e Austrália [83,84].

O desenvolvimento de resistência é um processo biológico natural e inevitável, pois não é nada mais do que a demonstração prática da lei darwinista da sobrevivência do mais apto. O uso de qualquer antimicrobiano exerce sempre uma “pressão seletiva” que tem como consequência a adaptação e sobrevivência de micro-organismos que carregam genes de resistência [75]. A eficiência ou tempo de vida útil de qualquer antibiótico é, por isso, encarada como limitada mas a informação disponível demonstra que o uso inadequado e excessivo destes fármacos é a principal causa de desenvolvimento e propagação da resistência aos antimicrobianos [70,75,81,82,85].

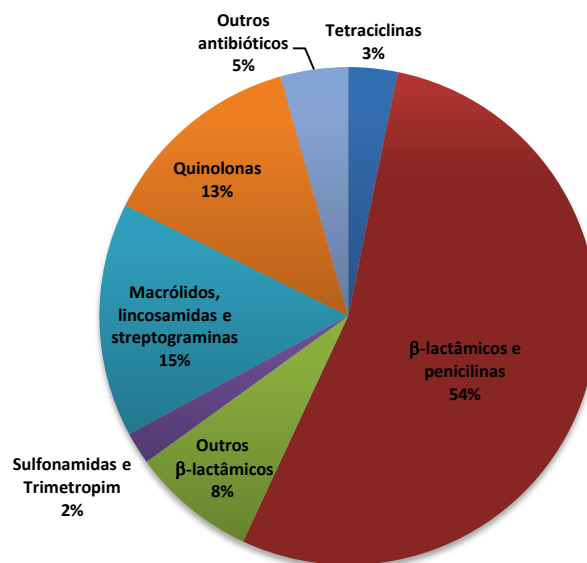
Os dados mais recentes disponibilizados pelo relatório da Rede Europeia de Vigilância ao Consumo de Antimicrobianos, que cobrem o período de 1997 a 2010, confirmam a existência de um gradiente Norte-Sul, no consumo de antimicrobianos, que se correlaciona com a percentagem de resistência observada. Os países que apresentam os maiores consumos de antimicrobianos, de que são exemplo a Grécia, Espanha, Itália e Portugal, são igualmente países onde se verificam maiores percentagens de resistência [70,80–82,85].

A informação mais atual, relativa ao ano de 2010, apresenta Portugal no 7º lugar, entre 26 países europeus, no que diz respeito ao consumo total de antibióticos na comunidade. Os dados disponíveis revelam uma tendência de estabilização no consumo, em 2010, o valor total, expresso em Dose Diária Definida (DDD) por 1000 habitantes e por dia, foi de 22,4 face a 22,7 registado em 2006. Os valores mais elevados foram observados na Grécia e o menor consumo ocorreu na Estónia com respetivamente 39,4 e 11,1 DDD/1000 hab/dia. O consumo hospitalar registou neste período, em Portugal, o valor de 1,4 DDD/1000 hab/dia [70].

A distribuição do consumo de antimicrobianos na comunidade (setor primário) em Portugal, para o ano de 2010 encontra-se resumida na Figura 2.

Os dados publicados pelo INFARMED registam, em 2011, a venda de mais de 7,5 milhões de embalagens de antibióticos, valores que colocam esta classe de fármacos na sexta posição no que respeita ao volume total de embalagens vendidas de substâncias farmacêuticas [86].





**Figura 2** Distribuição do consumo de antimicrobianos no grupo ATC J01 (antibacterianos para uso sistêmico) na comunidade (setor primário) em Portugal, ano de referência 2010. (Fonte: ESAC)

### 3.2 OCORRÊNCIA E IMPACTOS NO AMBIENTE

Os impactos associados à presença de antibióticos, no meio hídrico, é ainda matéria em discussão e com muitas perguntas sem resposta mas, a sua ubiquidade no ambiente é indelével. Uma parte substancial do trabalho científico tem estado direcionado para o desenvolvimento de métodos analíticos de elevada sensibilidade e robustez, o que tem permitido confirmar a disseminação destas substâncias e verificar que os sistemas de tratamento de água residuais, não foram concebidos, de um modo geral, para os eliminar eficientemente. Reuniram-se na Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3 alguns dos estudos realizados, disponibilizando-se apenas a informação relativa aos antibióticos Sulfametoxazol e Metronidazol. Procurou-se selecionar um conjunto de estudos com a maior abrangência geográfica possível e dando preferência a informação mais recente.

Na sua grande maioria, correspondem a campanhas de monitorização de dezenas de fármacos, sendo que três deles são estudos de monitorização classificados como pan-europeus [50,87,88].

Para lá da expetável variabilidade dos resultados, é possível verificar uma tendência no grau de contaminação dos diferentes meios hídricos. De um modo geral, verifica-se que as concentrações ou a contaminação dos recursos segue a seguinte ordem: efluentes hospitalares ≥ águas residuais urbanas > águas superficiais > águas subterrâneas > águas de consumo.

Os valores registados para as águas de consumo são normalmente inferiores aos limites de deteção das técnicas analíticas e os estudos disponíveis indicam que não há risco significativo para a saúde humana através desta via de exposição [5,69,89,90].

As concentrações mais elevadas para ambos os antibióticos foram registadas em efluentes hospitalares com valores de 90 µg/L e 12,8 µg/L, para Metronidazol e Sulfametoxazol, respetivamente [91]. Nos afluentes dos sistemas de tratamento de águas residuais urbanas, as concentrações para Sulfametoxazol registaram valores compreendidos entre 3,8 e 3000 ng/L e para Metronidazol, o valor mínimo e máximo observado foram de 19,4 ng/L e 12078 ng/L, respetivamente. Estes valores pretendem apenas ilustrar a ordem de grandeza para a ocorrência destas substâncias. Não é obviamente possível traçar alguma tendência ou estabelecer alguma comparação pois os padrões de consumo destas substâncias poderão variar significativamente. Acresce ainda o facto de os antibióticos constituírem uma classe particular de fármacos, pois, para além da existência de variação sazonal no seu consumo, verifica-se também a existência de variações horárias na sua excreção. Os protocolos de amostragem podem ser, para estas substâncias, críticos, se não tiverem em conta estas variações [92–94].

O que os dados permitem todavia constatar, sem dúvida, é a presença do antibiótico Sulfametoxazol em todas as águas ambientais. É um dos fármacos mais frequentemente detetado e a sua presença nas águas subterrâneas é um indicador da sua mobilidade e persistência (baixa biodegradabilidade) [36,50,87,88,95–97], tendo sido inclusivamente detetado, num antigo poço de abastecimento a 109 m de profundidade por infiltração, desde a superfície, que os autores estimam ter sido de 48 anos [98].

**Tabela 1** Ocorrência do antibiótico Sulfametoxazol em diversos compartimentos ambientais hídricos.

Localização	Amostra	Concentração (ng/L) (Frequência de Detecção %) <sup>1</sup>	Notas (Referências)
Alemanha	Águas Residuais	Afluente: C <sub>média</sub> : 820 Efluente: C <sub>média</sub> : 620	Monitorização de fármacos em efluentes de uma ETAR e nas águas subterrâneas adjacentes. [99]
	Águas Subterrâneas	C <sub>média</sub> : 41; 46; 100; 110	
	Águas Residuais	C <sub>máx</sub> : 2000 (100 %)	Monitorização de antibióticos nos efluentes de uma ETAR e nas águas ambientais circundantes. • 10 amostras de efluentes; • 52 amostras águas superficiais; • 59 amostras de águas subterrâneas [72]
	Águas Superficiais	C <sub>máx</sub> : 480 (67 %)	
	Águas Subterrâneas	C <sub>máx</sub> : 470 (6 %)	
Austrália	Águas Residuais	Afluente: 90 - 570 Efluente: 50 - 320 (100 %)	Monitorização de antibióticos nos efluentes de uma ETAR. [32]
	Águas Residuais	Afluente: C <sub>máx</sub> : 3000; C <sub>média</sub> : 250 Efluente: C <sub>máx</sub> : 200; C <sub>média</sub> : 50 (89 %; 83 %)	
	Águas Residuais Hospitalares	Efluente: C <sub>máx</sub> : 300; C <sub>média</sub> : 100 (66 %)	Monitorização de antibióticos no ciclo de água urbano: • 5 efluentes de ETAR; • 3 efluentes hospitalares; • 20 locais de amostragem de água de consumo; • 81 para águas superficiais (rios, estuários, águas marinhas - 98 amostras)
	Águas Superficiais	C <sub>máx</sub> : 2000; C <sub>média</sub> : 8 (73 %)	
	Água Consumo	<3; nd	
Áustria	Águas Residuais	Afluente: 24 - 145 Efluente: 50 - 91	Monitorização de fármacos em efluentes de três ETAR. [100]
Canadá	Águas Residuais	Efluente: C <sub>máx</sub> : 871; C <sub>média</sub> : 243 (100 %)	Monitorização de antibióticos em efluentes de 8 ETAR. [101]
China	Águas Residuais	Afluente: 10 - 118 Efluente: 9 - 78 (79 %)	Monitorização de antibióticos em efluentes de 4 ETAR e em águas superficiais adjacentes. [28]
	Águas Superficiais	C <sub>média</sub> : 143	
Coreia do Sul	Águas Residuais	Afluente: 3,8 - 407; C <sub>média</sub> : 136	Monitorização de fármacos em efluentes de sete ETAR, de duas ETA e nas águas ambientais circundantes. [102]
	Águas Superficiais	C <sub>máx</sub> : 36; C <sub>média</sub> : 20	
	Água Consumo	<1; nd	
Espanha	Águas Residuais	Afluente/Efluente: 27,2 - 596 (100 %)	Monitorização de sulfonamidas ao longo da bacia hidrográfica do rio Ebro. • Efluentes de 7 ETAR • 14 pontos de amostragem de águas superficiais [38]
	Águas Superficiais	11 - 112 (85 %)	
	Águas Subterrâneas	12,2 - 65 (80 %) 6,5 - 18,2 (85 %) 5 - 42,8 (100 %)	

<sup>1</sup> Percentagem de amostras nas quais se detetou o antibiótico Sulfametoxazol

**Tabela 2** Ocorrência do antibiótico Sulfametoxazol em diversos compartimentos ambientais hídricos (continuação).

Localização	Amostra	Concentração (ng/L) (Frequência de Detecção %) <sup>1</sup>	Notas (Referências)
EUA	Águas Residuais	Afluentes: 390; 1000; 400	Monitorização de antibióticos em:
	Águas Residuais Hospitalares	400; 800; 2100	• 6 efluentes ETAR; • 5 efluentes hospitalares; • águas ambientais circundantes
	Águas Superficiais	300; 300*	*Valores obtidos para 2 pontos de amostragem a 1,6 e 6,4 km a jusante de uma ETAR. [103]
	Águas Subterrâneas	C <sub>máx</sub> : 1110 (23 %)	Campanha de monitorização de fármacos em 18 estados - 47 pontos de amostragem. [96]
	Águas Superficiais	C <sub>máx</sub> : 110 (90 %)	Monitorização anual em 19 serviços de abastecimento de águas.
Europa	Águas Consumo	Efluente: C <sub>máx</sub> : 3 (22 %) C <sub>máx</sub> : 0,32*	* Valor na distribuição (torneira) *1 ocorrência em 15 amostras; LD: 0,25 ng/L [97]
	Águas Residuais	C <sub>máx</sub> : 1690,5; C <sub>média</sub> : 280,2 (83 %) 122; 229*	Campanha de monitorização de efluentes de ETAR (23 países europeus; 91 amostras). * Valores para a ETAR de Parada (Maia) e ETAR de Viana do Castelo [88]
	Águas Superficiais	C <sub>máx</sub> : 4072; C <sub>média</sub> : 76 (75 %)	Campanha de monitorização de 100 rios europeus (122 amostras). [50]
França	Águas Subterrâneas	C <sub>máx</sub> : 38; C <sub>média</sub> : 2 (24,4 %)	Campanha de monitorização de águas subterrâneas (23 países; 164 amostras). [87]
	Águas Superficiais	1,9 (37 %)	Campanha de monitorização na região Alpina (71 amostras de águas superficiais; 70 de águas subterrâneas). [104]
Israel	Águas Subterrâneas	3,0 (66 %)	
	Águas Residuais	Efluente: 90-150 (100 %) C <sub>máx</sub> : 37* (100 %) C <sub>máx</sub> : 20**	*Amostragem realizada em 2 poços de monitorização a ~ 29 m de profundidade. **Amostragem realizada num poço de abastecimento a 109 m. [98]
Portugal	Águas Residuais	Afluentes: 529 – 1662 Efluente: 340 - 1679	Monitorização de efluentes de 4 unidades hospitalares e de uma ETAR (Coimbra). [105]
	Águas Residuais Hospitalares	307 - 8714; 191 - 5524 41,0 - 1288; <LD - 695	
Suécia	Águas Residuais Hospitalares	Efluente: 400-12800	Campanha de monitorização de antibióticos no efluente de uma unidade hospitalar. [91]
Suíça	Águas Residuais	Efluente: C <sub>média</sub> : 3476±4588 (100 %)	Monitorização anual do efluente de 1 unidade hospitalar.
	Águas Residuais Hospitalares	Efluente: C <sub>média</sub> : 2394±2261* (100 %)	*Metabolito N4-acetil-Sulfametoxazol [106]

<sup>1</sup> Percentagem de amostras nas quais se detetou o antibiótico Sulfametoxazol

**Tabela 3** Ocorrência do antibiótico Metronidazol em diversos compartimentos ambientais hídricos.

Localização	Amostra	Concentração (ng/L) (Frequência de Detecção %) <sup>1</sup>	Notas (Referências)
Alemanha	Águas Residuais	Afluente: C <sub>média</sub> : ~1000*	Monitorização de fármacos no efluente de uma ETAR instalada numa unidade hospitalar. *Valores indicados graficamente [107]
	Hospitales	Efluente: C <sub>média</sub> : ~100*	
Espanha	Águas Residuais	Efluente: 1800 - 9400	Monitorização de fármacos no efluente de uma unidade hospitalar. [108]
	Hospitales	C <sub>média</sub> : 5900	
	Águas Residuais	Efluente: 117,82±0,56	Monitorização de fármacos ao longo da bacia hidrográfica do rio Llobregat (efluente de uma ETAR e ETA; águas superficiais). *Valores a montante da descarga de uma ETAR **Valores a jusante da descarga de uma ETAR LD: 8,42 ng/L [109]
	Águas Superficiais	44,88±0,92*; <LD**	
França	Água Consumo	Efluente: <LD	Campanha de monitorização na região Alpina (71 amostras de águas superficiais; 70 de águas subterrâneas); LD: 5 ng/L [104]
	Águas Superficiais	0,3 (3 %)	
Irão	Águas Subterrâneas	<LD (0 %)	Monitorização de antibióticos em efluentes de duas ETAR. [110]
	Águas Residuais	Efluente: 2800	
Itália	Águas Superficiais	23; 68; 13* (14 %)	Campanha de monitorização de fármacos, ao longo da bacia hidrográfica do rio Pó. *Concentrações para 3 pontos de amostragem onde foi possível quantificar o antibiótico [111]
	Águas Residuais	Afluente: <LD - 113; <LD - 145* Efluente: 19,4 - 83,5; 64,7 - 158*	
Portugal	Águas Residuais	<LD - 12315; <LD - 11344*	Monitorização de efluentes de 4 unidades hospitalares e de uma ETAR (Coimbra). * Metabolito hidroxilado de Metronidazol [105]
	Águas Residuais Hospitales	<LD - 1569; <LD - 2125* <LQ - 4315; <LD - 523* <LD - 5008; <LD - 990*	
Reino Unido	Águas Residuais	Afluente: 158 - 1583; (100 %) Efluente: 60 - 421; (100 %)	Campanha de monitorização de fármacos nos efluentes de uma ETAR e nas águas ambientais. * Ponto de amostragem situado a 1 km, a jusante, da ETAR ** Ponto de amostragem situado a 2 km, a montante da ETAR [112]
	Águas Superficiais	< 1,5 - 10* (14 %) 2-11** (100 %)	
Suécia	Águas Residuais	Efluente: 100 - 90200	Campanha de monitorização de antibióticos no efluente de uma unidade hospitalar. [91]
	Hospitales		
Suíça	Águas Residuais	Afluente: C <sub>máx</sub> : 12078; C <sub>min</sub> : 49,7	Valor máximo e mínimo registado para uma campanha anual de monitorização de antibióticos no afluente de uma ETAR. [92]
	Águas Residuais	Efluente: C <sub>média</sub> : 3388±1322	Monitorização anual do efluente de 1 unidade hospitalar. [106]
	Hospitales	(100 %)	
	Águas Residuais	Afluente: C <sub>média</sub> : 1300±700 Efluente: C <sub>média</sub> : 1100±600 (100 %)	Monitorização de fármacos nos efluentes de uma ETAR e de uma ETA. [113]
	Água Consumo	Afluente: <10	

<sup>1</sup> Percentagem de amostras nas quais se detetou o antibiótico Metronidazol

A informação disponível para Metronidazol é menor. Esta substância não tem integrado tantas campanhas de monitorização como para o Sulfametoxazol. Os estudos realizados confirmam a sua presença nas águas residuais (urbanas e hospitalares), em concentrações normalmente superiores às observadas para Sulfametoxazol, sendo igualmente detetado em águas superficiais (Tabela 3). A ocorrência do antibiótico em águas subterrâneas é pouco conhecida, tendo sido apenas detetado num único estudo [104].

Três estudos assinalam a presença destes fármacos em águas residuais (urbanas e hospitalares) e subterrâneas em Portugal, com valores máximos de 8714 e 12315 ng/L em efluentes hospitalares, e de 1662 e 229 ng/L em efluentes residuais urbanos, para Sulfametoxazol e Metronidazol, respetivamente.

A presença no ambiente de antibióticos e o seu potencial impacto ecológico tem colocado diversas questões. Apesar de estes compostos serem detetados na gama dos nanogramas e microgramas por litro (ng-µg/L), a possibilidade de exercerem efeitos tóxicos nos ecossistemas pode não ser negligenciável, em especial porque são continuamente libertados, adquirindo uma "*pseudo* persistência" e não ocorrem isolados. Efeitos aditivos/sinérgicos podem amplificar os potenciais impactos, que não são previsíveis nem exetáveis numa lógica de avaliação individual das substâncias [56,114]. O número de estudos sobre avaliação toxicológica crónica de antibióticos, no meio ambiente, é cada vez maior, com o objetivo de colmatar as diversas lacunas de conhecimento, uma vez que a abordagem da avaliação de risco, tendo apenas por base os testes de efeitos agudos, se apresenta inadequada [41,52,77,115].

De entre os organismos aquáticos avaliados, sobressaem as algas, pela elevada susceptibilidade que possuem aos antibióticos. A sensibilidade varia muito entre algas azuis-verdes (cianobactérias), algas verdes e até plantas superiores, de forma considerada pouco consistente. A exceção são as algas azuis-verdes que se apresentam como as mais sensíveis à exposição aos antibióticos [54]. Sulfametoxazol é um dos antibióticos de mais elevada toxicidade para as cianobactérias ( $CE_{50}=26,8 \mu\text{g/L}$  e  $NOEC=5,9 \mu\text{g/L}$ ), tendo alguns estudos demonstrado a existência de risco significativo para os níveis de concentração observados em algumas águas superficiais [38,115]. A informação atualmente disponível assinala que, a ocorrência de potenciais efeitos adversos sobre as algas, não pode ser excluída. Constituindo estes organismos a base da cadeia alimentar, mesmo pequenas alterações nas suas populações têm o potencial de afetar os equilíbrios dos sistemas aquáticos [42,54,76].

Particular destaque tem também merecido o estudo dos efeitos destes fármacos sobre as comunidades microbianas presentes nos solos, sedimentos e águas, procurando-se avaliar o risco de inibição de crescimento e/ou alteração na biodiversidade destas comunidades, por eliminação de umas espécies em benefício de outras, e as consequências no equilíbrio dos ecossistemas [41].

A questão mais sensível é contudo a que está associada à promoção e transferência de resistência, sendo igualmente a mais complexa [77]. Os sistemas de tratamentos de águas residuais poderão aqui desempenhar

um papel crucial, pois neles convergem dois importantes fatores nesta equação: os antibióticos e as bactérias. O processo de tratamento biológico pode proporcionar as condições adequadas para o desenvolvimento e disseminação de resistência, uma vez que as bactérias são continuamente expostas a níveis ambientalmente relevantes de antibióticos [33,77,116]. Contudo, a informação disponível não permitiu ainda estabelecer, se os níveis de resistência observados nos efluentes e em ambientes aquáticos, resultam da libertação de bactérias resistentes no ambiente e possível transferência de genes e/ou se resultam da exposição ambiental destes organismos aos antibacterianos. A ligação entre a presença de agentes antimicrobianos e a seleção de bactérias resistentes, bem como a transferência de resistência, para as concentrações ambientais destas substâncias, permanece por estabelecer [33,76,77].

### 3.3 DESTINO E REMOÇÃO DE ANTIBIÓTICOS NOS SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS

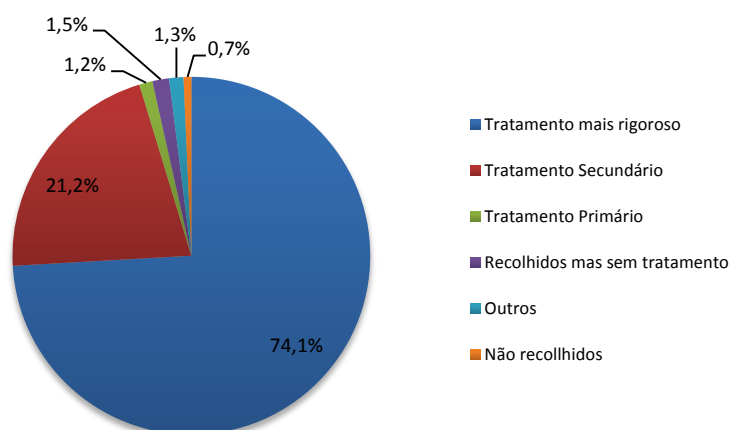
O reconhecimento da necessidade de salvaguardar a "qualidade ecológica" das águas tem conduzido, no âmbito na União Europeia, a uma revisão e adoção de legislação sucessivamente mais estrita. Desde a introdução da Diretiva 91/271/CEE<sup>11</sup>, que os sistemas de tratamentos de águas residuais têm vindo a adaptar-se para dar resposta a normas e parâmetros de qualidade mais exigentes. A remoção de nutrientes (fósforo e azoto), de matéria orgânica e a eliminação de organismos patogénicos são os principais objetivos destes sistemas e foram para eles, especialmente, concebidos e otimizados [6,37].

A sua configuração mais comum pode compreender até 3 etapas principais de tratamento: primário (processo físico-químico); secundário (processo biológico) e o terciário (filtração/desinfecção). Os dados mais recentes sobre o tratamento das águas residuais na Europa indicam que, no período de 2009 a 2010, um total de 82 % das águas residuais da União Europeia recebeu tratamento secundário e 77 % destas águas foram objeto de um tratamento terciário, para combater a eutrofização ou reduzir a poluição bacteriológica. Há, contudo, enormes diferenças entre os Estados Membros. Portugal apresenta valores significativamente inferiores à média europeia; 47 % das águas residuais receberam tratamento secundário, 20 % foram objeto de tratamento mais rigoroso/terciário e 3 % das águas residuais não receberam tratamento (taxa de cobertura de saneamento básico é de 97 %) [117]. Na Figura 3, apresenta-se a tipologia dos sistemas de tratamentos disponíveis nas maiores cidades europeias (aglomerados de mais de 150000 habitantes).

---

<sup>11</sup> Diretiva 91/271/CEE do Conselho, de 21 de Maio de 1991, que regula o tratamento das águas residuais urbanas

A compreensão do destino dos fármacos nos sistemas de tratamentos de águas residuais urbanas e a avaliação da eficácia dos processos de tratamentos instalados são fatores críticos que determinam a ocorrência destas substâncias, no meio ambiente aquático. Diversos estudos têm procurado avaliar e compreender como e quais os fatores que determinam o destino dos fármacos, nas diversas etapas que percorrem num sistema convencional de tratamento. Reúnem-se, nas Tabelas 4 a 7, alguns desses trabalhos realizados, dando contudo apenas destaque à informação relativa aos antibióticos Sulfametoxazol e Metronidazol. Estes são, porém estudos, na sua grande maioria, de monitorização de dezenas de fármacos de diversas classes terapêuticas.



**Figura 3** Tipo de tratamento de águas residuais em grandes cidades europeias expresso em % da carga total de efluentes gerados. (Dados reportados em 2011) Fonte: Agência Europeia do Ambiente.

A presença destas substâncias, em particular nas águas superficiais, depende do tipo de tratamento instalado nas estações e das suas condições operacionais, da origem e composição dos efluentes, das propriedades físico-químicas dos fármacos e ainda das condições ambientais (variações sazonais de temperatura e pluviosidade) [30,33,37,118]. É portanto particularmente difícil estabelecer padrões de comportamento e previsões, uma vez que se tem observado, até para substâncias da mesma classe terapêutica, uma grande variabilidade no seu destino e remoção [30,33,37,119].

Contudo, os dados permitem perceber que os sistemas convencionais de tratamento não são, para a grande maioria dos fármacos, capazes de os remover para níveis inferiores aos atuais limites de deteção dos métodos analíticos disponíveis.

Os antibióticos Sulfametoxazol e Metronidazol são dois exemplos de substâncias que pertencem a essa grande maioria de micropoluentes que são continuamente libertados, nos meios hídricos, via estações de tratamento de águas residuais urbanas (ETAR). O antibiótico Sulfametoxazol tem sido alvo de um maior número de estudos, comparativamente a Metronidazol. Reuniram-se os principais resultados de alguns desses estudos. A eficiência de remoção de Sulfametoxazol, nos sistemas de tratamento de águas residuais urbanas, apresenta



uma enorme variabilidade. De um modo geral, a maior redução na concentração deste antibiótico é observada após os processos de tratamento secundário [29,31,32,39,120,121].

A contribuição do tratamento primário para a remoção deste fármaco não é significativa; os valores encontrados variam entre <0 e 9 %. À exceção de um estudo, onde se indica uma remoção média de 16,9 %, é consensual que esta etapa de tratamento não é decisiva na eliminação/remoção deste antibiótico [32,39,120–122].

**Tabela 4** Remoção do antibiótico Sulfametoxazol em sistemas convencionais de tratamento de águas residuais.

Concentração Afluente Efluente (ng/L)	Principais Tratamentos	Remoção (%)	Notas (Referências)
2800±300 <sup>a</sup> 680±40	Primário Secundário: Lamas Ativadas (2 estágios) TRS: 6 dias; TRH: 1h - TRS: 49 dias; TRH: 2h Filtro de areia; Desinfecção: Cloração	R <sub>S</sub> : 57* R <sub>S</sub> : 75** R <sub>G</sub> : 77,5	Monitorização de quatro ETAR (EUA – Nova Iorque)
880±80 220±20	Secundário: Lamas Ativadas/FeCl <sub>3</sub> TRS: 17 dias; TRH: 28-31h Filtro de areia; Desinfecção: Cloração	R <sub>S</sub> : 77 R <sub>G</sub> : 78,4	* Eficiência de remoção – 1º estágio ** Eficiência de remoção – 2º estágio
750±40 <sup>a</sup> 500±60	Primário Secundário: Discos Biológicos TRH: 4h Filtro de areia; Desinfecção: UV	R <sub>S</sub> : 36 R <sub>G</sub> : 33,3	[29]
720±60 <sup>a</sup> 380±30	Secundário: Lamas Ativadas TRS: 15 dias; TRH: 1h Desinfecção: Cloração	R <sub>S</sub> : 36 R <sub>G</sub> : 47,2	
16±5; 14,4±4 <sup>a</sup> 16±7	Primário Secundário: Lamas Ativadas TRS: 4,5 - 6 dias; TRH: 22h Desinfecção: Cloração	R <sub>G</sub> : 0	Monitorização de quatro ETAR (China – Hong - Kong)
118±17 78±13	Primário Secundário: Lamas Ativadas/vala oxidação TRH: 12 - 18h Desinfecção: UV	R <sub>G</sub> : 33,9	Teores nas lamas: • ETAR - 1: C <sub>Lamas</sub> : nd • ETAR - 2: C <sub>Lamas</sub> : 20±10 ng/g • ETAR - 3: C <sub>Lamas</sub> : nd • ETAR - 4: C <sub>Lamas</sub> : nd LQ: 10 ng/g
10±3; 10±2 <sup>a</sup> 12±3	Primário Secundário: Lamas Ativadas TRS: 5,6 - 8,2 dias; TRH: 15 - 22h	R <sub>G</sub> : 0	[28]
25±7 9±4	Primário - Quimicamente Assistido TRS: 3 - 4 dias; TRH: 8 - 12h Desinfecção: Cloração	R <sub>G</sub> : 64	
145 50	Primário Secundário: Lamas Ativadas TRS: 52-114-237 dias; TRH: 13,3-12,5-13,6 h	R <sub>G</sub> : 65,5	Monitorização de quatro ETAR (Áustria)
24 91*	Primário Secundário: Lamas Ativadas TRS: 2 dias; TRH: 2h	R <sub>G</sub> : <0*	* Valor no efluente superior ao do afluente. A não contabilização do metabolito mais frequente de SMX - N4-acetil-SMX e/ou inconsistências na amostragem poderão justificar este resultado.
75 51	Primário Secundário: Lamas Ativadas TRS: 46 dias; TRH: 29h	R <sub>G</sub> : 32	*Planta Piloto (instalada na primeira ETAR)
145 56	Biorreactor de membrana* TRS: 10-27-55 dias; TRH: 12-29-96 h	R <sub>G</sub> : 61,4	[100]
279 <sup>a</sup> ; (162-530) <sup>c</sup> 231; (104-231) <sup>c</sup>	Primário Secundário: Lamas Ativadas	R <sub>G</sub> : 17,3	Monitorização de uma ETAR (Espanha - Madrid) [35]

a: Concentração no efluente primário; b: concentração nas lamas; c: gama de concentrações; TRS: tempo de retenção dos sólidos; TRH: tempo de retenção hidráulico; R<sub>S</sub>: eficiência do tratamento secundário; R<sub>G</sub>: eficiência global; SMX: Sulfametoxazol; LQ: limite de quantificação

**Tabela 5** Remoção do antibiótico Sulfametoxazol em sistemas convencionais de tratamento de águas residuais (cont.).

Concentração Afluente Efluente (ng/L)	Principais Tratamentos	Remoção (%)	Notas (Referências)
93 <sup>a</sup> ; (250 - 1300) <sup>a,c</sup> -	Primário		Monitorização de uma ETAR (Espanha – Barcelona)
	Secundário: Lamas Ativadas TRS: 10 dias; TRH: 11,5h	R <sub>G</sub> : 73,8±12,7	- Valores não indicados para o efluente.
	Biorreactor de membrana <sup>+</sup> TRH: 7,2h; membrana ultrafiltração	R <sub>G</sub> : 80,8±12,2	<sup>+</sup> Planta Piloto (os dois reatores a funcionar em paralelo com o sistema de lamas ativadas).
	Biorreactor de membrana <sup>+</sup> TRH: 15h; membrana microfiltração	R <sub>G</sub> : 78,3±13,9	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K<sub>d</sub>: 3,2±4,5 L/Kg (lamas primárias)</li> <li>• K<sub>d</sub>: 77±60 L/Kg (lamas secundárias)</li> <li>• K<sub>d</sub>: 60±49 L/Kg (1<sup>o</sup> biorreactor)</li> <li>• K<sub>d</sub>: 63±42 L/Kg (2<sup>o</sup> biorreactor)</li> </ul> [31]
(230 - 570) <sup>c</sup> (850 - 1600) <sup>c*</sup>	Primário		Monitorização de duas ETAR- (Suíça)
	Secundário: Lamas Ativadas (2 estágios) TRS: 3 dias; TRH: 5h	R <sub>G</sub> : 0; 50; 53** R <sub>P</sub> : 0 - 9 <sup>#</sup>	*Concentração para o metabolito mais frequente de Sulfametoxazol: - N4-acetil-SMX
	TRS: 10 - 12 dias; TRH: 15h Filtro de areia		A eficiência de remoção (R <sub>P</sub> ou R <sub>G</sub> ) é relativa a ambos.
	Biorreactor de membrana <sup>+</sup> TRS: 16±2, 33±3, 60 - 80 dias; TRH: 15 h	R <sub>G</sub> : 87, 74, 68	**Os valores de R <sub>G</sub> são relativos a 3 ou 2 campanhas de monitorização.
(230 - 570) <sup>c</sup> (850 - 1600) <sup>c*</sup>	Primário		<sup>#</sup> Gama de valores para as 2 ETAR.
	Secundário: Lamas Ativadas TRS: 21 - 25 dias; TRH: 31 h	R <sub>G</sub> : 61, 76** R <sub>P</sub> : 0 - 9 <sup>#</sup>	<sup>+</sup> Operado em paralelo com o sistema de lamas ativadas.
	Filtro de areia		<sup>++</sup> Operado em paralelo com o sistema de lamas ativadas.
	Reator de leito fixo <sup>++</sup> TRH: 1 h	R <sub>G</sub> : 60, 67**	- R <sub>G</sub> (N4-acetil-SMX): 89 - 96 %
	Filtro de areia		[39]
500 <sup>d</sup> ; 360 <sup>e</sup> 320 <sup>d</sup> ; 270 <sup>e</sup>	Primário	R <sub>P</sub> : <0 <sup>#</sup>	Monitorização de uma ETAR (Austrália)
	Secundário: Lamas Ativadas	R <sub>S</sub> : 62 %*	<sup>#</sup> Valores de concentração superiores no efluente.
	TRS: 12,5 dias; TRH: 11h	R <sub>G</sub> : 44 %**	*Valor obtido à saída do reator de lamas ativadas. **Valor obtido à saída do tanque de sedimentação das lamas secundárias
			[32]
820±230 620±90	Primário		Monitorização de uma ETAR - (Alemanha)
	Secundário: Lamas Ativadas TRS: 12 - 14 dias; TRH: 25 - 35h	R <sub>G</sub> : 24	[99]
55±20 71±42	Primário		Monitorização de uma ETAR - (Suíça)
	Secundário: Lamas Ativadas + FeCl <sub>3</sub> TRH: 2 - 4h	R <sub>G</sub> : <0 *	*Valores de concentração superiores no efluente.
	Filtro de carvão		O metabolito N4-acetil-SMX não foi considerado neste estudo
			[113]
29; (<3-150) <sup>c</sup> 10; (<3-23) <sup>c</sup>	Secundário: Reator de leitos percoladores	R <sub>G</sub> : <0*	Monitorização de duas ETAR (Reino Unido)
			*Valores de concentração superiores no efluente.
115; (20-274) <sup>c</sup> 19; (4-44) <sup>c</sup>	Secundário: Lamas Ativadas	R <sub>G</sub> : 70	O metabolito N4-acetil-SMX não foi considerado neste estudo
			[112]

a: Concentração no efluente primário; c: gama de concentrações; d: valores de concentração máxima; e: valor de concentração mediana; TRS: tempo de retenção dos sólidos; TRH: tempo de retenção hidráulico; R<sub>P</sub>: eficiência do tratamento primário; R<sub>S</sub>: eficiência do tratamento secundário; R<sub>G</sub>: eficiência global; K<sub>d</sub>: coeficiente de sorção nas lamas; SMX: Sulfametoxazol; LQ: limite de quantificação

**Tabela 6** Remoção do antibiótico Sulfametoxazol em sistemas convencionais de tratamento de águas residuais (cont.)

Concentração Afluente Efluente (ng/L)	Principais Tratamentos	Remoção (%)	Notas (Referências)
580 250	Primário Secundário: Lamas Ativadas TRH: 24h	R <sub>p</sub> : <0 * R <sub>s</sub> : 67** R <sub>G</sub> : 61 <sup>#</sup>	Monitorização de uma ETAR (Espanha – Galiza) * Concentração à saída do decantador primário superior valor do afluente **Remoção calculada para os valores de saída do decantador primário (entrada lamas ativadas). <sup>#</sup> Remoção calculada para os valores reportados para o afluente e efluente [120]
(529-1662) <sup>c</sup> (340-1679) <sup>c</sup>	Primário Secundário: Reator de leitos filtrantes/percoladores	R <sub>G</sub> : <0 - 41	Monitorização de uma ETAR (Portugal) O metabolito N4-acetil-SMX não foi considerado neste estudo [105]
-	Primário Secundário: Lamas Ativadas	R <sub>G</sub> : 11; 24; 0; 84* R <sub>G</sub> : 71**	Monitorização de seis ETAR (Itália) - Valores não indicados para o efluente. *Eficiências de remoção para os meses de Janeiro a Março (4 ETAR monitorizadas). **Eficiências de remoção para os meses de Junho a Setembro – SMX foi apenas detetada em 1 das 3 ETAR monitorizadas neste período [94]
543±47; 405±20,3 <sup>+</sup> 86,8±32,8; 106±8,2 <sup>+</sup>	Primário Secundário: Lamas Ativadas Desinfecção: Cloração	R <sub>p</sub> : 10,4 * R <sub>s</sub> : 69,3 % <sup>#</sup> R <sub>G</sub> : 84; 73,8**	Monitorização de duas ETAR (China) <sup>+</sup> Valores para as campanhas de: Maio; Novembro *Remoção média para a campanha de Maio e Novembro <sup>#</sup> Remoção após tratamento secundário + desinfecção **Remoção em: Maio; Novembro [121]
239±8,3; 216±9,8 <sup>+</sup> 65,2±1,2; 101±1,0 <sup>+</sup>	Primário Secundário: Lamas Ativadas (vala de oxidação) Desinfecção: UV	R <sub>p</sub> : 16,9* R <sub>s</sub> : 46,6 % <sup>#</sup> R <sub>G</sub> : 72,7; 40,3**	
3476±4588 2394±2261* -	Primário Biorreactor de membrana <sup>+</sup> TRS: 30 - 50 dias; TRH:36 - 42 h	R <sub>G</sub> : 81±4 <sup>#1</sup> R <sub>G</sub> : 7±57 <sup>#2</sup> R <sub>G</sub> : 36±28 <sup>#3</sup>	Monitorização de uma ETAR de uma unidade hospitalar (Suíça) - Valores não indicados para o efluente. * Concentração do metabolito N4-acetil-SMX <sup>+</sup> Planta piloto - tratamento de águas residuais hospitalares (1 ano de funcionamento contínuo) <sup>#1</sup> Remoção para N4-acetil-SMX <sup>#2</sup> Remoção para SMX <sup>#3</sup> Remoção SMX + N4-acetil-SMX [106]
102; (20-268) <LQ	Primário Biorreactor de membrana <sup>+</sup> TRS: 45 dias; TRH:12,5 h Osmose inversa	R <sub>s</sub> : 69 R <sub>G</sub> : > 99	Monitorização de uma ETAR (Espanha) <sup>+</sup> Planta Piloto (alimentada com o efluente bruto da ETAR) LQ: 6,83±3,22 ng/L [123]

a: Concentração no efluente primário; c: gama de concentrações; d: valores de concentração máxima; e: valor de concentração mediana; TRS: tempo de retenção dos sólidos; TRH: tempo de retenção hidráulico; R<sub>p</sub>: eficiência do tratamento primário; R<sub>s</sub>: eficiência do tratamento secundário; R<sub>G</sub>: eficiência global; Kd: coeficiente de sorção nas lammas; SMX: Sulfametoxazol; LQ: limite de quantificação

Os estudos efetuados indicam ainda que a sorção nas lamas primárias, mas também nas secundárias, não é significativa [28,29,31,119,121]. É, na fase aquosa, que a remoção de Sulfametoxazol ocorre. Enquanto a desinfecção por radiação UV, não parece reduzir a concentração do antibiótico, a degradação química através da desinfecção com cloro contribuiu para a remoção de Sulfametoxazol [29,121]. Há uma grande discrepância na literatura para a remoção de Sulfametoxazol em ETAR com valores relatados desde 0 até 84 %. Diversos estudos indicam até remoções negativas e alguns com valores bastante expressivos (-279 %) [105,112,113,120,124]. A principal justificação para estes valores poderá residir no seu principal metabolito, N4-acetil-Sulfametoxazol, que pode apresentar concentrações à entrada das ETAR quase 4 vezes superiores às de Sulfametoxazol [39]. Muito poucos estudos têm considerado este aspeto da presença de metabolitos que durante o processo de tratamento podem, pelo menos parcialmente, reverter à sua forma parental, como o parecem demonstrar as elevadas eficiências de remoção observadas para este metabolito [39,106,119]. Uma parte da variabilidade observada na remoção de Sulfametoxazol está certamente associada com a não contabilização, nos balanços de massa, do seu principal metabolito N4-acetil-Sulfametoxazol.

Fatores como tempo de retenção dos sólidos (idade das lamas), retenção hidráulica, temperatura, têm sido assinalados como parâmetros importantes na remoção de fármacos, em geral, e de antibióticos, em particular [29,39,94,113,124]. Para Sulfametoxazol, as informações relativas a estes parâmetros são contraditórias e a elevada variabilidade observada para a remoção não permite estabelecer comparações [39,94,100,112,119,121].

O tipo de tecnologia instalada nos sistemas de tratamento é também um dos fatores que influencia a remoção dos poluentes. O maior número de estudos aborda a tecnologia de lamas ativadas (é a mais comum nas ETAR) e, como já foi referido, as percentagens de remoção variam significativamente entre estudos; contudo, quando comparada com a tecnologia de biorreactor com membrana, as diferenças entre estes dois processos biológicos não foram consideradas significativas em dois dos estudos [31,100], verificando-se, num estudo, uma maior diferença entre estes processos, com melhores eficiências de remoção para o biorreactor de membrana [39]. Os filtros biológicos (leitos percoladores) e biodiscos apresentam, em média, menores eficiências com valores inferiores a 41 % [29,105,112].

O número de estudos realizados, para o antibiótico Metronidazol, é bastante inferior ao reportado para Sulfametoxazol (Tabela 7). A remoção deste fármaco apresenta, nos sistemas de tratamento de águas residuais urbanas valores muito baixos, compreendidos entre 0 e ~ 40 % [35,105,112,113,125]. Eficiências superiores foram relatadas para sistemas de tratamento dedicados a efluentes hospitalares, com recurso a biorreactores de membrana, sendo que dois são instalações piloto e apenas um corresponde a um sistema efetivo de tratamento [106,107,123]. A remoção/sorção nas lamas ativadas é, à semelhança do observado para Sulfametoxazol, negligenciável e a etapa de desinfecção, por cloração, aparenta não contribuir para a remoção de Metronidazol [125].

**Tabela 7** Remoção do antibiótico Metronidazol em sistemas convencionais de tratamento de águas residuais.

Concentração (ng/L) Afluente Efluente	Principais Tratamentos	Remoção (%)	Notas (Referências)
C <sub>máx</sub> : ~400*; ~300*	Primário	R <sub>G</sub> : ~0	Monitorização de três ETAR (Espanha – Barcelona)
	Secundário: Lamas Ativadas		
	TRS: 10 dias; TRH: 26 - 40 h		
C <sub>máx</sub> : ~200* ~300*	Químico (Alúmen/Polieletrólito)	R <sub>G</sub> : ~0	*Apresentação gráfica da concentração Não detetado nas lamas - LQ: 5,6 ng/L [125]
	Desinfecção: Cloragem/Microfiltração		
	Primário		
	Secundário: Lamas Ativadas	R <sub>G</sub> : ~30	
	TRS: 6 dias; TRH: 20 h		
	Primário		
90 <sup>a</sup> ; (44 - 165) <sup>c</sup>	Secundário: Lamas Ativadas	R <sub>G</sub> : 38,7	Monitorização de uma ETAR (Espanha - Madrid) [35]
	55; (<LQ - 127) <sup>c</sup>		
1300±700	Primário	R <sub>G</sub> : 11	Monitorização de uma ETAR (Suíça)
	Secundário: Lamas Ativadas + FeCl <sub>3</sub>		
	TRH: 2 - 4h		
1100±600	Filtro de carvão		[113]
643; (158 - 1583) <sup>c</sup>	Secundário: Reator de leitos filtrantes/percoladores	R <sub>G</sub> : ~30	Monitorização de duas ETAR (Reino Unido)
265; (60 - 421) <sup>c</sup>			
569; (347 - 962) <sup>c</sup>	Secundário: Lamas Ativadas	R <sub>G</sub> : 23	[112]
353; (129 - 561) <sup>c</sup>			
51,1±49,8; 62,9±69,0*	Primário	R <sub>G</sub> : ~0	Monitorização de uma ETAR (Portugal)
51,1±21,1; 102±33*	Secundário: Reator de leitos filtrantes/percoladores	R <sub>G</sub> : ~0 <sup>#</sup>	
			* <sup>#</sup> Valores metabólito MNZ-OH [105]
3388±1322	Primário	R <sub>G</sub> : 45	Monitorização de uma ETAR de uma unidade hospitalar (Suíça) - Valores não indicados para o efluente. *Planta piloto - tratamento de águas residuais hospitalares (1 ano de funcionamento contínuo). [106]
-	Biorreactor de membrana <sup>+</sup>		
	TRS: 30 - 50 dias; TRH: 36 - 42 h		
C <sub>média</sub> : ~1000*	Primário	R <sub>S</sub> : > 90	Monitorização de uma ETAR de uma unidade hospitalar (Alemanha) Efluente hospitalar é tratado antes de descarregado no sistema de esgotos municipal. * Apresentação gráfica das concentrações LQ: 10 ng/L [107]
C <sub>média</sub> : ~100*	Biorreactor de membrana		
	TRS: > 100 dias		
486; (<LQ - 1140) <sup>c</sup>	Primário	R <sub>S</sub> : 95	Monitorização de uma ETAR (Espanha) *Planta Piloto (alimentada com o efluente bruto da ETAR) LQ: 208,9±102,7 ng/L [123]
<LQ	Biorreactor de membrana <sup>+</sup>	R <sub>G</sub> : > 99	
	TRS: 45 dias; TRH: 12,5 h		
	Osmose inversa		

a: Concentração no efluente primário; c: gama de concentrações; d: valores de concentração máxima; e: valor de concentração mediana; TRS: tempo de retenção dos sólidos; TRH: tempo de retenção hidráulico; R<sub>P</sub>: eficiência do tratamento primário; R<sub>S</sub>: eficiência do tratamento secundário; R<sub>G</sub>: eficiência global; MNZ: Metronidazol; MNZ-OH metabólito hidroxilado; LQ: limite de quantificação

A escassez de estudos limita a informação sobre a influência dos parâmetros operacionais dos sistemas de tratamento no destino e remoção do antibiótico Metronidazol. Contudo, o tempo de retenção dos sólidos (TRS) parece exercer influência na eficiência do processo. Nos sistemas de lamas ativadas com TRS de 6 e 10 dias, não se observou remoção para o antibiótico, verificando-se para um TRS de 16 dias, uma remoção de cerca de 30 % [125]. As maiores eficiências de remoção, observadas para os biorreatores de membrana, ocorreram para TRS superiores a 30 dias, chegando, num estudo, a valores superiores a 100 dias [106,107,123]. A recalcitrância do antibiótico Metronidazol é, de certa forma, expectável, uma vez que é um dos fármacos de primeira escolha no tratamento de infeções por bactérias anaeróbias [126]. Estudos laboratoriais confirmaram a sua capacidade de inibição ( $CE_{50} = 700 \mu\text{g/L}$ ) de micro-organismos anaeróbios presentes em lamas ativadas digeridas [127]. Concentrações desta ordem de grandeza ( $700 \mu\text{g/L}$ ), e superiores, são frequentes em efluentes hospitalares mas também ocorrem em afluentes de ETAR.

A eliminação de antibióticos, nos sistemas de tratamentos de águas residuais urbanas, é um processo complexo com múltiplos mecanismos possíveis, diversos fatores podem influenciar o desempenho destes processos. A diferença entre as taxas de eliminação observadas resulta provavelmente de parâmetros, tais como o tipo de processo de tratamento, o tempo de retenção hidráulica (TRH), o tempo de retenção de sólidos (TRS), a temperatura, a pluviosidade, a composição do efluente, a presença de metabolitos ou de produtos de transformação e até dos protocolos de amostragem dos efluentes [6,39,92–94,106,112,125].

A remoção dos antibióticos Sulfametoxazol e Metronidazol ocorre principalmente durante o tratamento secundário e pode ser atribuída, quase exclusivamente, aos processos de biodegradação. É contudo uma eliminação parcial e estes dois fármacos são, deste modo, continuamente libertados nas águas recetoras e, consequentemente, detetados no meio aquático. Embora os processos de tratamentos possam ser otimizados, só a adoção de etapas adicionais de tratamentos avançados permitirá eliminar estas substâncias para valores inferiores aos atuais limites de deteção dos métodos analíticos [30,33,128].

### 3.4 TRATAMENTOS AVANÇADOS – CARVÃO ATIVADO

Os processos de tratamento avançados mais comuns, nos sistemas de tratamento de águas residuais, compreendem, normalmente, uma etapa de filtração por areia (e/ou carvão) e desinfecção por UV ou cloração. Os dois primeiros são considerados pouco eficazes na remoção de fármacos, apresentando a cloração melhores resultados embora insuficientes para assegurar uma eliminação que possa ser considerada completa [29,39,121,129,130].

As técnicas de tratamento terciário de ozonização, filtração por membrana (nanofiltração e osmose inversa) e adsorção em carvão ativado são correntemente consideradas as melhores opções para a remoção de substâncias farmacêuticas mais recalcitrantes [27,37,102,128,131–135].

A multiplicidade de fármacos, com estruturas e propriedades físico-químicas muito diversas, faz com que nenhuma tecnologia seja, por si só, capaz de responder eficientemente a matrizes tão complexas. Será necessário implementar uma sequência de etapas de tratamento, que combinadas poderão constituir uma “barreira” eficaz à entrada destas substâncias nos meios hídricos [130,132,136–139].

A combinação dos processos de ozonização e filtração/adsorção por carvão ativado é, presentemente, considerada a melhor abordagem. São tecnologias já disponíveis e implementadas, e, quando combinadas, permitem eficiências elevadas (> 90 %) para a quase totalidade dos fármacos presentes nos efluentes. O carvão ativado possui ainda a vantagem de diminuir a toxicidade/atividade farmacológica associada aos subprodutos do processo de oxidação [19,140–143].

Indicam-se, na Tabela 8, alguns dos estudos mais recentes de avaliação da eficiência do processo de sorção por carvão ativado na remoção de fármacos dando, contudo, apenas relevo à informação relativa aos antibióticos Sulfametoxazol e Metronidazol. De um modo geral, observam-se melhores eficiências de remoção para Metronidazol, mas apenas dois estudos avaliam simultaneamente (isto é em condições idênticas) a eliminação dos dois antibióticos [130,138].

A presença de matéria orgânica (COD – carbono orgânico dissolvido) e a regeneração/substituição periódica do carvão ativado são fatores críticos na eficiência do processo. No caso particular de Sulfametoxazol, o pH, pela influência que exerce na especiação do antibiótico, é igualmente determinante na eficiência de remoção.



**Tabela 8** Resumo de algumas aplicações de carvão ativado na remoção dos antibióticos Sulfametoxazol e Metronidazol.

Antibiótico	Processo de Tratamento Condições	Eficiência (%)	Notas (Referências)
Sulfametoxazol	PAC: AC800 (Acticarb) PAC: WPM (Calgon Carbon) Tempo de contacto: 4h Dose: 1 - 20 mg/L	20* 36-56**	Ensaio à escala piloto e laboratorial • Três amostras de águas superficiais (afluentes de ETA); Uma amostra sintética * Para AC800; dose 5mg/L e pH: 7,9 ** Para WPM; dose 5mg/L; Gama de valores médios para as 4 amostras; pH: 6,8 - 8,2 [144]
	PAC: AC800 (Acticarb) PAC: WPM (Calgon Carbon) Tempo de contacto: 4h Dose: 1; 5; 50 mg/L Conc: 100 ng/L	36-56* ~89**	Ensaio à escala: laboratorial; piloto; real • Amostras de águas superficiais (afluentes de ETA); Amostras sintéticas * Para WPM: dose 5mg/L; laboratorial ** Escala piloto: 35 mg/L de PAC # Com regeneração do GAC no local ## Sem regeneração local do GAC A regeneração periódica do GAC é um fator crítico na eficiência
	ETA <sub>1</sub> - GAC <sup>#</sup> Conc <sub>Afluente</sub> : 6,0 ng/L; Conc <sub>Efluente</sub> : <1,0 ng/L	-	[132]
	ETA <sub>2</sub> - GAC <sup>##</sup> Conc <sub>Afluente</sub> : 426 ng/L; Conc <sub>Efluente</sub> : 69 ng/L	-	
	PAC: Norit SAE Super PAC: SORBOPOR MV-125 Dose: 10 - 20 mg/L; pH: 7,2 ± 0,4; COD: 7,3±1,9mg/L Conc <sub>Afluente</sub> : 340±261 ng/L (ETAR)	38±30* 64±25**	Instalação piloto de PAC numa ETAR • Período de funcionamento de 1 ano * Remoção na ETAR (tratamento secundário) ** Remoção média (PAC) para os dois tipos de PAC avaliados (eficiências semelhantes) [130]
	PAC: Norit SAE Super Dose: 8 - 43 mg/L; pH: 8,2 - 9,0 COD: 5,9 - 8,3 mg/L Conc: 3230±4700 ng/L <sup>#</sup>	2±8* 33±9* 62±11*	Instalação piloto de uma ETAR Efluente hospitalar # Concentração após tratamento secundário * Dose de PAC: 8; 23; 43 mg/L respetivamente Remoção de N4-acetil-SMX: 72±3; 92±2; 97±1 [138]
	GAC Tempo de contacto: 18 min Conc <sub>Efluente</sub> : 110 - 240 ng/L <sup>#</sup> COD: 9 - 11 mg/L	> 95 %*	ETAR com processo de tratamento para reutilização da água residual tratada • Filtro de GAC substituído em 2008 • Etapas: O <sub>3</sub> + GAC # Concentração após tratamento secundário * Remoção média (O <sub>3</sub> +GAC) [140]
	GAC: GAC-1200 (Ativated Carbon Tech.) Dose: 7,5 g; pH: 7,2 - 7,5; COD: 1,5 - 7,3 mg/L	~55* ~98**	Ensaio à escala laboratorial: Amostra sintética * Remoção média no biorreator de membrana ** Remoção média global (Biorreator + GAC) [136]
	GAC: GAC-1200 (Ativated Carbon Tech.) Dose: 7,5 g; pH: 7,2 - 7,5	40±26* ~98**	Ensaio à escala laboratorial: Amostra sintética Duas configurações: MBR-GAC e PAC-MBR * Remoção média no biorreator ** Configuração: MBR-GAC # Configuração: PAC-MBR Remoções médias: volume de efluente tratado de 135 L; > 30 dias de operação [145]
	PAC: PAC-1200 (Ativated Carbon Tech.) Dose: 500 mg/L; pH: 7,2 - 7,5	~70 <sup>#</sup>	
Metronidazol	PAC: Norit SAE Super PAC: SORBOPOR MV-125 Dose: 10 - 20 mg/L pH: 7,2±0,4; COD: 7,3±1,9mg/L Conc <sub>Afluente</sub> : 1168±866 ng/L (ETAR)	45±34* 79±17**	Instalação piloto de PAC numa ETAR • Período de funcionamento de 1 ano * Remoção na ETAR (tratamento secundário) ** Remoção média (PAC) para os dois tipos de PAC avaliados (eficiências semelhantes) [130]
	PAC: Norit SAE Super Dose: 8 - 43 mg/L; pH: 8,2 - 9,0 COD: 5,9 - 8,3 mg/L Conc: 1860±2030 ng/L <sup>#</sup>	3±22* 67±9* 78±5*	Instalação piloto de uma ETAR Efluente hospitalar # Concentração após tratamento secundário * Dose de PAC: 8; 23; 43 mg/L respetivamente [138]

### 3.4.1 Carvão Ativado

A aplicação de carvão ativado é um dos mais antigos e eficazes processos na eliminação de contaminantes presentes nas águas. É reconhecida como a melhor tecnologia disponível (*Best Available Technology*) para a remoção de uma vasta gama de poluentes em águas destinadas a consumo humano, por entidades como a Agência de Proteção Ambiental Americana e a Organização Mundial de Saúde [146,147].

Atualmente, a sua implementação nos processos/sistemas de tratamento de águas residuais urbanas tem vindo a ser recomendada, com o objetivo de diminuir a exposição ambiental e humana a fármacos e produtos de cuidado e higiene pessoal, especialmente nos casos em que, por razões de escassez de água ou numa perspetiva de gestão sustentável deste recurso, se recorre à reutilização dos efluentes tratados para irrigação ou recarga artificial de aquíferos [19,22,62,134,135,140,142].

#### 3.4.1.1 Remoção por Carvão Ativado

A versatilidade única e a elevada capacidade de sorção que o carvão ativado apresenta, residem muito particularmente nas características texturais (porosidade e distribuição do tamanho de poros) e químicas da superfície. Ambas dependem do material precursor e podem, em certo grau, ser desenvolvidas/modificadas mediante processos de ativação específicos ou posteriormente por tratamentos adicionais [148–150].

A porosidade e a distribuição do tamanho dos poros determinam a área de superfície do carvão ativado, que varia tipicamente entre 500 e 1500 m<sup>2</sup>/g. De acordo com a IUPAC, os poros são classificados em três grupos:

- Microporos: poros com diâmetro <2 nm
- Mesoporos: poros com diâmetro compreendido entre 2 e 50 nm
- Macroporos: poros com diâmetro >50 nm

A elevada área e capacidade de adsorção são principalmente atribuídas à microporosidade; os mesoporos permitem a sorção de moléculas de maiores dimensões e, em conjunto com os macroporos, são fundamentais no acesso dos compostos aos microporos e na cinética do processo de adsorção [148–150].

As propriedades de adsorção de carvão ativado são ainda influenciadas pela composição química da sua superfície. Estes materiais são caracterizados por possuírem uma superfície química com um certo grau de heterogeneidade que é atribuído à presença de heteroátomos, tais como oxigénio (predominante), mas também azoto, enxofre ou fósforo [148,150–152]. O teor destes elementos está dependente da natureza do precursor e do próprio método de ativação e a sua presença determina o comportamento ácido/base da superfície do carvão. As estruturas (grupos funcionais) que envolvem a ligação carbono-oxigénio são as que

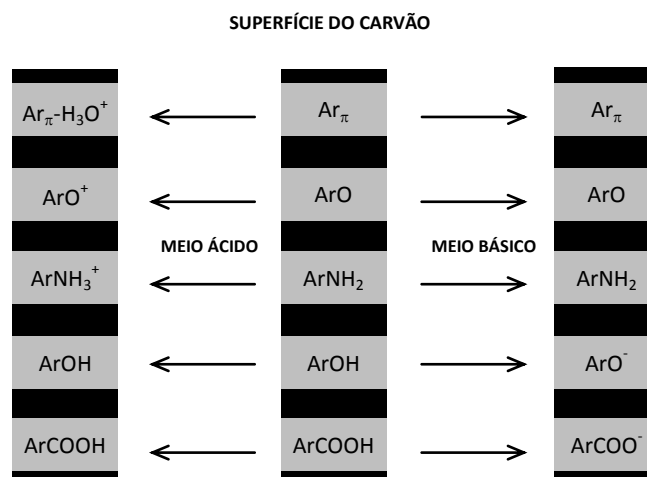
maior influência exercem nas características, comportamento e interações da superfície com o meio [148,150,153].

O carácter ácido da superfície de carvão ativado está principalmente relacionado com o teor de oxigénio. A presença de grupos funcionais, tais como carboxílico, lactónico, fenólico e carbonilo, em geral localizados nas extremidades das camadas de grafeno, que constituem os blocos de construção dos carvões ativados, determinam as propriedades ácidas da superfície [150,153–155]. As propriedades básicas da superfície de carvão ativado não são, ainda, claramente compreendidas [150,151,153–155]. Diferentes modelos têm sido propostos, na tentativa de explicar a basicidade da superfície de carbono.

De um modo geral, os modelos distinguem-se pelo facto de atribuírem, uns ao plano basal e outros às extremidades das camadas grafémicas, as propriedades básicas. Isto é, serão responsáveis pela basicidade estruturas contendo oxigénio (estruturas do tipo cromeno e pirona), que se acreditam estar localizadas nas extremidades da matriz de carbono [151,153,156]. Ou a basicidade poderá ser consequência da existência de regiões, na superfície do plano basal, livres de oxigénio, com elevada densidade em eletrões- $\pi$ , (regiões  $C_{\pi}$ ) [154,155,157]. Dada a natureza heterógena da superfície dos carvões é provável que ambos os modelos possam explicar as propriedades básicas da superfície [157].

A natureza e concentração dos grupos funcionais são determinantes para o desenvolvimento de cargas à superfície do carvão ativado, uma vez que estes grupos poderão sofrer protonação/desprotonação em função do pH do meio aquoso (Figura 4). Os carvões ativados apresentam, de um modo geral, comportamento anfotérico [150,156,158].

A carga superficial resulta do equilíbrio que se estabelece entre grupos funcionais presentes na superfície e o pH do meio aquoso. O valor de pH, para o qual a carga da superfície assume o valor de zero, define-se como ponto de carga zero ou nula ( $pH_{pcz}$ ). A este pH, as cargas positivas igualam as cargas superficiais negativas, isto é, a carga eléctrica líquida da superfície é nula. Este é um parâmetro importante na compreensão, em particular, do comportamento de sorção de moléculas polares ou polarizáveis [150,158].



**Figura 4** Representação esquemática da ionização dos grupos funcionais superficiais de um carvão ativado em função do pH do meio (adaptado de [150]).

Igualmente determinantes, na capacidade de um carvão ativado para eliminar eficientemente um contaminante, são as características desse mesmo contaminante e da solução onde se encontra. De entre essas características, destacam-se: a estrutura e dimensão molecular do soluto, a natureza dos substituintes (no caso de compostos aromáticos) a solubilidade/hidrofobicidade, a polaridade e carácter iónico; temperatura, força iónica, e pH da solução. Estes parâmetros irão influenciar a acessibilidade aos poros e afetar as interações hidrofóbicas e/ou eletrostáticas entre o soluto e a superfície do carvão ativado [150].

#### 3.4.1.2 Mecanismos de Remoção de Compostos Aromáticos

A adsorção, por carvão ativado, de compostos aromáticos em solução aquosa, resulta de uma complexa interação entre o adsorvato e a superfície do adsorvente. Estas interações podem ser de natureza eletrostática (estritamente coulombianas ou iónicas) ou não-eletrostáticas. Ambas estão dependentes, quer das características dos compostos orgânicos, quer do carvão ativado e ainda da química da solução [150].

Interações não-eletrostáticas são sempre atrativas e podem incluir as forças de van der Waals, as interações hidrofóbicas e a ligação de hidrogénio. São consensualmente aceites como as principais responsáveis pela remoção de compostos orgânicos, tendo-se demonstrado que a superfície do material de carbono é utilizada de forma mais eficaz, quando as interações não-eletrostáticas são a força motriz para a adsorção [150].

As interações eletrostáticas irão ocorrer e assumir uma maior importância quando o composto orgânico é ionizável, podendo estar dissociado ou protonado nas condições de pH usadas. A natureza destas interações poderá ser atrativa ou repulsiva, sendo fortemente condicionada pela densidade eletrónica da superfície, propriedades químicas do composto e força iónica da solução [150].

Diversos trabalhos têm procurado elucidar/esclarecer os mecanismos responsáveis pela remoção dos contaminantes orgânicos, em geral, e de compostos aromáticos em particular [159–165]. Há um consenso geral de que as características texturais e químicas da superfície dos carvões ativados desempenham um papel fundamental na adsorção. No entanto, dada a complexidade do fenómeno não foi, ainda, possível estabelecer um mecanismo geral capaz de explicar, de forma contundente, o processo [150,166]. As discrepâncias surgem quando uma descrição detalhada do fenómeno é tentada, em particular quando se procura estabelecer a natureza específica dos sítios de adsorção.

Alguns autores consideram que as regiões ricas em eletrões- $\pi$ , situadas nas camadas grafénicas (planos basais) da superfície do carvão ativado, interagem com os eletrões- $\pi$  dos anéis aromáticos (interações dispersivas  $\pi - \pi$ ), enquanto outros autores sugerem a formação de complexos dador-aceitador (ou complexos de transferência de carga), entre grupos superficiais do tipo carbonilo e/ou os anéis aromáticos do plano basal e os anéis aromáticos dos contaminantes orgânicos, como possíveis mecanismos que justificam a remoção [150,159–164,167–171]. Para além destas hipóteses, a possibilidade de formação de ligação de hidrogénio com os grupos oxigenados superficiais tem também sido considerada ([150,163,170,172]).

A incerteza associada à contribuição relativa das diferentes interações envolvidas nestes processos de adsorção requer, para cada sistema particular, um estudo exaustivo. No entanto, é possível estabelecer algumas considerações gerais no que diz respeito à influência, quer das características do sorbato, quer da natureza da superfície do carvão ativado na remoção. Atendendo à sua importância na compreensão destes fenómenos, serão discutidas de seguida com um pouco mais de detalhe.

### **3.4.1.3 Fatores que Controlam o Processo de Remoção**

Na descrição estrutural da superfície de um carvão ativado distinguem-se, normalmente, três zonas principais: planos basais, grupos funcionais superficiais, normalmente presentes nas extremidades dos planos basais, (principalmente grupos contendo oxigénio – grupos funcionais oxigenados), e material mineral (cuja natureza e quantidade é uma função do precursor), normalmente designado por teor em cinzas inorgânicas [153,158,163].

A adsorção ocorre predominantemente no plano basal, que constitui mais de 90 % da superfície, principalmente por efeito da componente de dispersão das forças de van der Waals, mas a ordenação aleatória das folhas aromáticas do carvão ativado resulta em valências insaturadas e eletrões desemparelhados, o que irá influenciar o comportamento de adsorção, especialmente para as moléculas polares ou polarizáveis [158,163].

No entanto, a maior atividade dos grupos funcionais superficiais pode ter efeitos significativos sobre a capacidade total de adsorção. Efetivamente, a natureza química da superfície de um carvão ativado depende essencialmente da quantidade de heteroátomos. Estes átomos, que podem ter origem na matéria-prima ou ser introduzidos durante a preparação ou através de tratamentos adicionais, influenciam profundamente a carga, a hidrofobicidade e densidade eletrônica da superfície do carvão ativado, assumindo uma grande influência sobre as interações eletrostáticas e não-eletrostáticas [150,163].

Os grupos funcionais oxigenados são, de longe, os mais importantes e a sua influência nos mecanismos de adsorção tem sido sistematicamente estudada [153,159–161,163,169,172–176].

O efeito destes grupos funcionais na hidrofobicidade da superfície, e consequentemente nas interações hidrofóbicas soluto/sorbente, é um dos temas mais consensuais. Em geral, um aumento no teor de oxigênio na superfície, através principalmente da introdução de grupos carboxílicos, conduz a uma diminuição na hidrofobicidade da superfície que se traduz, normalmente, numa redução na capacidade de adsorção [150,152,163,170,171,177–181].

A justificação para este fenómeno está associada com a capacidade dos grupos (superficiais oxigenados) carboxílicos estabelecerem ligações por ponte de hidrogénio com as moléculas de água, conduzindo à formação de aglomerados de água, que reduzem a acessibilidade dos compostos orgânicos e diminuem a disponibilidade de sítios ativos para a sorção destes [150,152,163,177–179,182].

Em teoria, seria de esperar que o aumento do teor de oxigênio à superfície beneficiasse a remoção de solutos orgânicos, com capacidade para estabelecer ligações por ponte de hidrogénio. No entanto, verifica-se, experimentalmente, que a adsorção de moléculas de água é dominante e este efeito é tanto mais marcado quanto maior a percentagem de oxigênio [163,180,181].

Os grupos funcionais oxigenados exercem ainda uma clara influência no desenvolvimento de cargas superficiais em carvões ativados imersos em solução aquosa. A carga superficial é determinada por fatores intrínsecos à natureza química da superfície e exteriores, dos quais se destacam o pH, mas também a força iónica da solução [161,162,179,183,184].

O parâmetro mais comum na avaliação da carga superficial é o pH no ponto de carga zero ( $\text{pH}_{\text{pcz}}$ ), que representa o valor de pH para o qual se assume que a carga global apresentada pela superfície é nula. A determinação deste parâmetro permite estabelecer/reconhecer a existência de condições de pH para as quais a carga global será predominantemente positiva ( $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pcz}}$ ) e condições de pH para as quais a carga global será negativa ( $\text{pH} > \text{pH}_{\text{pcz}}$ ).

A superfície dos carvões ativados é, por este motivo, usualmente classificada como anfotérica mas o ponto de carga zero pode assumir valores tão baixos como 2, para carvões possuindo abundantes grupos carboxilo até valores próximos de 11 para superfícies praticamente livres de grupos funcionais ácidos.

As interações eletrostáticas estarão obviamente dependentes da carga superficial que poderá inibir ou promover a remoção dos compostos orgânicos ionizáveis. E, neste caso, o pH tem um duplo papel, uma vez que não só determina a carga superficial do sorbente, mas também a dissociação/protonação dos grupos funcionais dos compostos orgânicos.

Condições de pH que promovam o aparecimento à superfície de cargas de sinal oposto às dos iões orgânicos em solução irão contribuir para um aumento da remoção, por via de interações eletrostáticas atractivas, e o contrário será também verdadeiro.

Compostos de natureza básica serão preferencialmente removidos por carvões “ácidos”, que possuem superfícies mais oxigenadas e por esse facto apresentam menores valores de  $pH_{pcz}$ , e em contrapartida carvões “básicos”, com superfícies menos oxigenadas e maiores valores de  $pH_{pcz}$  serão mais eficientes na remoção de compostos de natureza ácida [154,160,162,163,173,174,185–188].

Para os compostos orgânicos não ionizáveis, a influência que o teor de oxigénio exerce na densidade eletrónica das camadas grafénicas é bem mais decisiva na sua remoção do que a exercida pela carga superficial. Para estes compostos, as interações dispersivas governam, geralmente, o processo de sorção e a alteração na densidade eletrónica tem efeito na extensão e força destas interações. O efeito destes grupos oxigenados está dependente da sua natureza ativante (R-OH) ou desativante (R-COOH, R-C=O) dos anéis aromáticos a que se encontram ligados. Os primeiros irão contribuir para um aumento da densidade eletrónica pois “cedem” os seus eletrões aos núcleos aromáticos, enquanto os grupos desativantes exercem influência oposta ao deslocarem para si os eletrões- $\pi$  do sistema aromático.

No caso particular de compostos orgânicos aromáticos, a existência de grupos substituintes e a sua natureza, ativante ou desativante, será igualmente determinante [160,161,163,165,167,174,189–191].

Alguns estudos indicam que o aumento da densidade de eletrões- $\pi$  conduz a um aumento da sorção, quando o processo é governado por interações do tipo  $\pi$ - $\pi$ . Em contrapartida, uma menor densidade eletrónica terá como consequência uma supressão ou redução no potencial dispersivo [159,160,162,175,176,189,192–194].

Outros estudos sugerem, no entanto, que uma menor densidade em eletrões- $\pi$  pode ter como efeito um aumento na capacidade de adsorção se o composto aromático possuir substituintes ativantes do respetivo anel aromático, enquanto que no caso de substituintes desativantes se verifica uma diminuição da remoção [163].

A situação oposta tem sido também descrita, isto é, uma superfície com maior densidade eletrônica (superfície mais básica) promove a remoção de compostos orgânicos com substituintes mais fortemente ativantes em detrimento de compostos com substituintes com menor poder ativante ou até desativante [161]. O mecanismo de remoção proposto, nestes casos, não é consensual, havendo autores que propõem a existência de interações dispersivas  $\pi$ - $\pi$  de natureza atrativa/repulsiva enquanto outros sugerem a formação de complexos do tipo  $\pi$ - $\pi$  dador-aceitador [161,163,165].

A remoção de moléculas orgânicas, a partir de soluções aquosas diluídas por carvão ativado, tem por base mecanismos ainda não totalmente compreendidos, sendo, contudo, possível sumariar alguns dos factos consensuais:

- O processo de remoção resulta de interações dispersivas e/ou eletrostáticas que se estabelecem entre o sorvente e o sorbato.
- A eficiência ou extensão da remoção é determinada pela solubilidade do sorbato, hidrofobicidade do sorbato e sorvente e pela força das interações  $\pi$ - $\pi$ .
- Quer a funcionalização do sorbente, quer a do sorbato influenciam as interações  $\pi$ - $\pi$  que se estabelecem entre ambos.
- O pH do meio é um fator importante ao determinar a carga superficial do sorbente e/ou especiação dos sorbatos ionizáveis.

### 3.4.2 Produção de Carvão Ativado

O carvão ativado é comercialmente produzido a partir de precursores orgânicos de natureza carbonosa, de que são exemplo o carvão e a lenhite e ainda alguns materiais lignocelulósicos (madeira e casca de coco). [148]. O material precursor deverá preencher alguns requisitos:

- Elevado teor em carbono
- Baixo teor em matéria inorgânica (cinzas)
- Boa disponibilidade e baixo custo
- Facilidade de ativação
- Boa estabilidade

Os dois principais processos de produção de carvão ativado são a ativação física (ou térmica) e a ativação química.

Na ativação física, o precursor é usualmente submetido a duas fases distintas: carbonização ou pirólise seguida da etapa de oxidação durante a qual é ativado. Na primeira etapa, o material é carbonizado entre temperaturas de 600 a 900 °C, em atmosfera inerte (azoto ou árgon), obtendo-se um carvão com uma estrutura porosa rudimentar.



Na etapa de ativação, o material carbonizado é exposto a uma atmosfera oxidante (dióxido de carbono, oxigénio ou vapor de água, para temperaturas entre 600 a 1200 °C) ocorrendo a gaseificação parcial do carbono e desenvolvimento da estrutura porosa e obtenção de elevadas áreas de superfície [148,195].

No processo de ativação química, a carbonização e ativação podem ser realizadas simultaneamente. Este procedimento é normalmente efetuado quando o precursor é de origem lignocelulósica. O material é impregnado com uma solução concentrada de um composto químico, de que são exemplo o  $H_3PO_4$ , o KOH ou o NaOH, sendo posteriormente seco e a mistura carbonizada, em atmosfera inerte, para temperaturas compreendidas entre 400 a 900 °C. Os compostos químicos favorecem a desidratação antes da degradação e subsequente repolimerização, reduzindo a formação de alcatrão e de produtos voláteis, permitindo aumentar o rendimento do processo. Outra vantagem, atribuída ao método de ativação química, é a menor temperatura e tempo de ativação que normalmente requer. Apresenta, contudo, a desvantagem associada a remoção e recuperação dos produtos químicos impregnados [148,195].

Procedimentos mistos, que combinam a ativação química e física, são também empregues, especialmente quando se pretende preparar carvões ativados granulares, com uma área superficial muito elevada e uma porosidade adequada, para determinadas aplicações específicas [148].

A versatilidade deste material reside naturalmente no processo e condições de preparação utilizadas mas igualmente na matéria-prima a partir da qual é obtido. E apesar de o carvão ativado poder ser produzido praticamente a partir de qualquer matéria-prima, os custos associados à sua produção e regeneração têm impulsionado a procura de precursores ambiental e economicamente mais competitivos.

A utilização de resíduos/subprodutos industriais ou de atividades agrícolas tem sido avaliada como uma alternativa mais sustentável/adicional às matérias-primas mais comuns. O recurso a estes materiais cumpre um duplo propósito ao converter resíduos, normalmente indesejáveis ou sem utilidade, com custos e problemas de deposição, num produto com elevado valor acrescentado e de crescente procura mundial <sup>12</sup> [196–198].

---

<sup>12</sup> O relatório da consultora Roskill (*Activated Carbon: Global Industry Markets and Outlook, 9th Edition 2013*) prevê a possibilidade do consumo mundial de carvão ativado duplicar, durante o período de 2013 a 2017, impulsionado pelas aplicações ambientais. Em 2012 quase 80% do consumo total de carvão ativado foi aplicado em processos de tratamento de água. (<http://www.roskill.com/reports/industrial-minerals/activated-carbon/leaflet>)

### 3.5 OS ANTIBIÓTICOS: METRONIDAZOL E SULFAMETOXAZOL

Metronidazol e Sulfametoxazol são os mais representativos e consumidos fármacos das suas respetivas classes antimicrobianas [70,199]. Os dados de monitorização do consumo de antibióticos em ambiente hospitalar, disponibilizados pela ESAC (Rede Europeia de Monitorização do Consumo de Antimicrobianos), listam estes antibióticos entre os 18 antimicrobianos que representam 75 % das prescrições hospitalares registadas no ano de 2009. Sulfametoxazol aparece na décima terceira posição (2,1 % das prescrições) e Metronidazol na quarta posição (5,0 % das prescrições); o antibiótico mais utilizado, em ambiente hospitalar, foi a Amoxicilina (em associação com o ácido clavulânico), representando 14,1 % das prescrições [199].

No que concerne ao consumo de antibióticos na comunidade, o consumo de sulfonamidas registou, em 2010, valores compreendidos entre 0,01 DDD/1000 hab/dia (Lituânia) e 1,2 DDD/1000 hab/dia (Reino Unido), sendo que 97 % deste consumo corresponde a Sulfametoxazol e Trimetopim<sup>13</sup>. Os valores registados para Portugal foram de 0,5 DDD/1000 hab/dia (99,7 % deste consumo correspondeu à combinação Sulfametoxazol + Trimetopim), o que corresponde a 2,1 % do consumo total de antimicrobianos para o ano de 2010.

A agregação dos dados não permite avaliar o consumo de Metronidazol. Este antibiótico aparece incluído numa classe designada de “outros antibióticos” que registou, no caso de Portugal, um consumo de 1,0 DDD/1000 hab/dia, correspondendo a ~5 % do consumo total de antimicrobianos [70]. Num estudo europeu, sobre a prevalência de infeções hospitalares e utilização de antimicrobianos em meio hospitalar, realizado no período de 2011 a 2012 e no qual participaram 53 hospitais portugueses, Metronidazol surge como décimo antimicrobiano mais utilizado nos hospitais portugueses [200].

Metronidazol é um derivado sintético da classe dos nitroimidazóis, originalmente introduzido, em 1959, para o tratamento do protozoário *Trichomonas vaginalis*. É considerado um fármaco de eleição na inibição de diversos protozoários e no tratamento de infeções por bactérias anaeróbicas. Foi também um dos primeiros fármacos aplicados com sucesso na erradicação da bactéria *Helicobacter pylori* (responsável por úlceras pépticas, alguns tipos de gastrite e cancro do estômago) [126,201,202].

Metronidazol é metabolizado no fígado com formação de dois produtos principais:

- Uma forma hidroxilada (hidroxi-Metronidazol), possuindo aproximadamente 30 a 65 % da atividade antimicrobiana da forma parental;
- E uma forma ácida (Ácido 2-metil-2-nitroimidazol-1-acético), unicamente detetada em pacientes com disfunções renais, com apenas 5 % da atividade do antibiótico.

---

<sup>13</sup> Sulfametoxazol é usualmente utilizado em associação com o Trimetoprim (grupo das pirimidinas). Esta combinação, designada por cotrimoxazol, visa obter um efeito sinérgico minimizando o desenvolvimento de estirpes resistentes [202].

A principal via de eliminação é através da urina, numa percentagem de 60 a 80 % da dose administrada, da qual 6 a 18 % corresponde à forma parental (forma original) [126,201].

A atividade biológica e toxicidade de Metronidazol é principalmente atribuída à redução do grupo nitro, e subsequente formação de intermediários tóxicos, com efeitos inibidores na síntese do ADN dos micro-organismos. A interferência na transferência intercelular de eletrões é um segundo mecanismo de ação que tem como resultado a diminuição de energia [126].

Sulfametoxazol é um antimicrobiano da família das sulfonamidas, os primeiros antibióticos de origem sintética (desenvolvidos nos anos 30), normalmente administrado em combinação com o Trimetropim. Esta classe de antimicrobianos interfere na biossíntese do Ácido tetrahidrofólico (uma forma reduzida do ácido fólico), um importante metabolito na síntese do ADN, por inibição competitiva da enzima dihidropteroato sintase necessária para catalisar a formação de um precursor do Ácido tetrahidrofólico [202–204].

Sulfametoxazol tem sido usado, desde a década de 1960, no tratamento de diversas infeções urinárias e nas prostatites bacterianas, e é o antibiótico de primeira escolha nas pneumonias por *Pneumocystis carinii* [202,205].

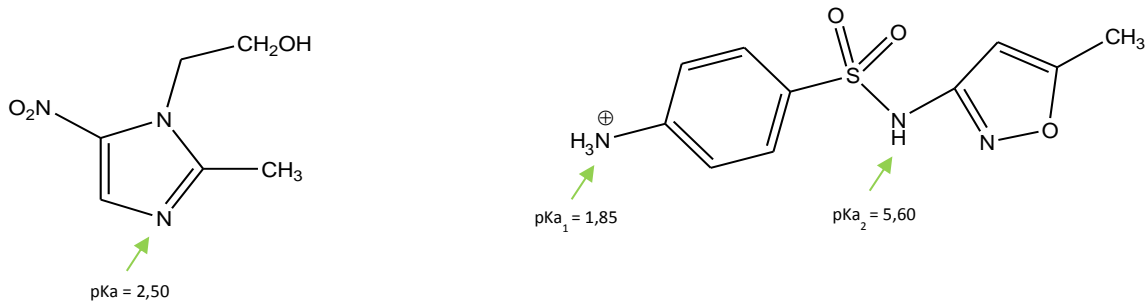
A biotransformação de Sulfametoxazol ocorre principalmente no fígado com a formação de metabolitos N4-acetilados e glucuronizados, sem atividade antimicrobiana. O N4-acetil-Sulfametoxazol é o principal metabolito humano. Os metabolitos acetilados e glucuronados são eliminados principalmente na urina, correspondendo aproximadamente 20 % do Sulfametoxazol excretado à forma ativa inalterada, 50-70 % na forma acetilada (N4-acetil-Sulfametoxazol) e 15-20 % corresponde ao derivado glucuronizado [204–206].

3.5.1 Características e Propriedades dos Antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol

Reúnem-se, na Tabela 9, algumas das principais propriedades físico-químicas e estruturais das substâncias em estudo. Indicam-se, sempre que disponibilizadas pela literatura consultada, as condições experimentais, nomeadamente de temperatura e/ou pH, os valores médios e respetivos erros das grandezas compiladas. Particularmente importantes, até para prever e compreender o comportamento ambiental destes compostos, são os parâmetros relativos à solubilidade, coeficiente de distribuição octanol-água ( $pK_{ow}$ ) e as constantes de dissociação ácido-base. Estas propriedades evidenciam a natureza substancialmente diferente dos dois antibióticos.

Tabela 9 Propriedades físico-químicas e estruturais dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol.

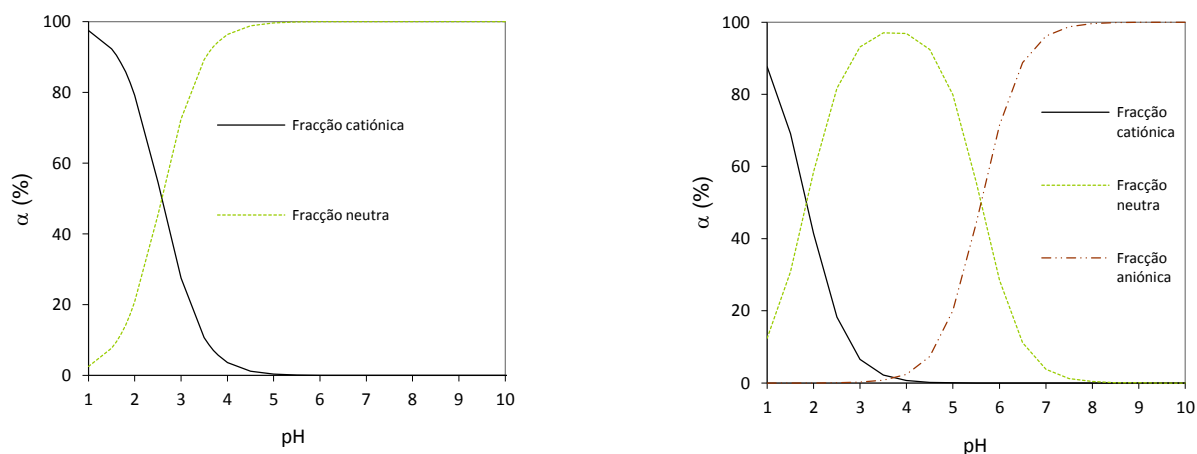
	Metronidazol	Sulfametoxazol
Fórmula Molecular	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S
Massa Molar (g/mol)	171,2	253,3
$pK_{ow}$	0,02 <sup>a</sup>	- 0,85 <sup>b</sup> ; - 0,91 <sup>b</sup>
Solubilidade em água (mM)	58,4 <sup>c</sup> ; 378,5 <sup>d</sup>	1,47±0,03 <sup>e</sup>
Constantes de Equilíbrio	$pK_a=2,50\pm0,04^f$	$pK_{a1}=1,85\pm0,30$ ; $pK_{a2}=5,60\pm0,04^g$
Área (Å <sup>2</sup> )	202	266
Volume (Å <sup>3</sup> )	186	235



( $pK_{ow}$ ):[207],[208],[209],[210]; a: pH=7,4; b: Espécie molecular a 25 °C  
(Solubilidade): [211], [212]; c: 2,5<pH<8 a 22 °C; d:pH=1,2 a 22°C; e:pH=4 a 25 °C  
(Constantes de Equilíbrio): [213], [214]; f: 25,0±0,5 °C; g: 23±1 °C  
(Área/Volume Molecular):[215], [216]

Metronidazol é, do ponto de vista do comportamento ou classificação ácido-base, uma base fraca contrariamente, Sulfametoxazol, sendo efetivamente uma substância anfotérica, poderá ser classificado como um ácido fraco.

Estas diferenças no comportamento ácido-base são mais evidentes se considerarmos os diagramas de distribuição ou especiação ilustrada na Figura 5.



**Figura 5** Diagramas de distribuição de espécies para Metronidazol (gráfico à esquerda) e Sulfametoxazol (gráfico à direita) em função do pH.

As percentagens de especiação foram estimadas tendo por base os respetivos valores de  $pK_a$  encontrados na literatura. Diferentes abordagens experimentais conduzem a valores reportados na literatura para as constantes de equilíbrio ( $K_a$ ), com algumas diferenças. Para Metronidazol, são referidos valores que diferem entre si no máximo de 0,12 unidades de  $pK_a$  (gama compreendida entre 2,38 e 2,50) [213,217,218]. Os valores referentes a Sulfametoxazol apresentam uma variação um pouco menor, para a primeira constante ( $pK_{a1}$ , relativa a protonação da amina anilínica –  $NH_2$ ) a diferença máxima é de 0,11 unidades de  $pK_a$  (gama compreendida entre 1,74 e 1,85) e de 0,08 unidades de  $pK_a$  (gama compreendida entre 5,57 e 5,65) para a segunda constante de equilíbrio ( $pK_{a2}$ , relativa a desprotonação de  $-SO_2NH$ ) [214,219–221]. Os valores assumidos neste estudo são os apresentados, na Tabela 9, e no critério para a sua escolha, procurou-se que correspondessem aos mais recentes e simultaneamente aos que maior clareza apresentavam nas condições experimentais usadas na sua determinação.

O conhecimento destes parâmetros é fundamental na avaliação da extensão da ionização dos compostos em função do pH da solução. Numa breve observação destes valores, sobressai o comportamento, em solução, muito distinto. Enquanto Metronidazol estará presente na sua forma não ionizada, para as condições de pH consideradas típicas/comuns para águas naturais e residuais, Sulfametoxazol irá exibir uma considerável variação na sua especiação. Possuindo dos grupos ionizáveis de características distintas ( $-NH_2$  e  $-SO_2NH$ ), Sulfametoxazol é uma substância de natureza anfotérica, podendo existir na sua forma neutra e ionizada positiva ou negativamente. Assim, para valores de pH compreendidos entre 5,60 e 1,85 ( $pK_{a1} < pH < pK_{a2}$ ), a forma neutra será predominante enquanto para valores de  $pH > 5,60$  ( $pH > pK_{a2}$ ), a espécie aniónica será dominante.

A influência do pH não se esgota na especiação dos compostos exercendo igualmente forte influência na solubilidade e no coeficiente de distribuição octanol-água. Os valores que se apresentam para estes parâmetros, na Tabela 9, dizem respeito às respectivas formas não ionizadas ou neutras.

Metronidazol apresenta uma solubilidade máxima a  $\text{pH} \sim 1,2$ , valor para o qual a forma catiónica predomina em solução, diminuindo com o aumento do pH (à medida que a forma catiónica diminui em solução), atingindo o valor mínimo a  $\text{pH} \sim 2,5$  e mantendo-se constante até a zona alcalina. Comportamento semelhante regista o coeficiente de partição octanol-água [211]. Metronidazol é, comparativamente, uma substância menos hidrófoba do que o Sulfametoxazol. Contudo, no caso do antibiótico Sulfametoxazol, estas duas propriedades são fortemente dependentes do pH da solução, isto é, da especiação do composto em solução. As formas iónicas apresentam valores substancialmente diferentes, uma vez que a sua afinidade para o solvente água é superior. Estudos realizados para avaliar a hidrofobicidade de um conjunto de antibióticos da classe das sulfonamidas, determinaram para  $\text{pK}_{\text{ow}}$ , na gama de pH compreendida entre 2 e 8,5, uma variação compreendida entre 0,12 e 0,91 para o antibiótico Sulfametoxazol, com um valor máximo de pH 3,65 (ponto isoelectrico - pI) [210]. Diferentes abordagens experimentais conduzem a valores reportados na literatura para este parâmetro com algumas diferenças, mas em todo o caso consistentes na relação encontrada entre este parâmetro e o pH. O valor máximo de hidrofobicidade ocorre para valores de pH em torno do ponto isoelectrico ( $\text{pI} = (\text{pK}_{\text{a1}} + \text{pK}_{\text{a2}})/2$ ), diminuindo muito significativamente para valores de pH sucessivamente superiores, assumindo valores mínimos na zona alcalina, na qual a forma aniónica assume valores em solução de próximos de 100 % [209,210,222].

Comportamento semelhante, apresenta a solubilidade. O valor mínimo coincide com o valor máximo de hidrofobicidade, isto é, com a forma molecular ou não ionizada do antibiótico. À medida que o pH aumenta, a forma aniónica prevalece e a solubilidade aumenta consideravelmente [212,222].

O baixo valor de  $\text{K}_{\text{ow}}$  destes fármacos e a especiação de Sulfametoxazol, a valores de pH típicos para águas residuais e ambientais, contribuem para que, nos sistemas de tratamento de água residual convencionais, a eliminação destas substâncias seja parcial. A remoção nas lamas é diminuta e são considerados fármacos de baixa a moderada biodegradabilidade [28,29,31,33,119,121,125].

Estes parâmetros permitem, igualmente, compreender o comportamento e destino ambiental destas substâncias. Um potencial de sorção, nos solos e sedimentos, baixo e consequentemente uma elevada mobilidade e capacidade de atingir os recursos hídricos superficiais e subterrâneos [41,73,74,98,99,223,224].

Processos de degradação de natureza biótica e/ou abiótica podem contribuir para atenuar a presença nas águas ambientais e solos destes fármacos. Mas estes são mecanismos que dependem, para lá das características específicas dos compostos, das condições ambientais (estação do ano, teor de matéria orgânica, exposição solar/latitude, temperatura e pH).

A degradação nos solos e no meio aquático, destas substâncias, é considerada lenta, com tempos de meia-vida compreendidos entre 20 a 75 dias, e o facto de serem continuamente introduzidos, faz com que os processos de atenuação naturais não sejam capazes de os eliminar [17,41,224–227].

## 4 ENQUADRAMENTO

A ocorrência de fármacos e produtos de higiene pessoal (PPCPs - *Pharmaceuticals and Personal Care Products*), em águas de superfície, tem merecido uma atenção e preocupação crescente, na última década, embora a primeira menção a PPCPs no ambiente remonte ao final dos anos 70.

Os antibióticos foram, desde muito cedo, identificados como uma categoria específica de poluentes com potencial de provocar impactos significativos no ambiente. Mas é o seu impacto na saúde pública – via promoção da resistência bacteriana – que mais receios levanta.

O desenvolvimento de métodos analíticos de elevada sensibilidade e robustez tem permitido confirmar a disseminação destas substâncias e constatar, que os sistemas de tratamento de água residuais, não foram, de um modo geral, concebidos para os eliminar com eficiência. Os antibióticos Sulfametoxazol e Metronidazol são dois exemplos de substâncias com actividade farmacológica que são continuamente libertados nos meios hídricos. A remoção destas substâncias constitui um desafio e a implementação de novas abordagens de tratamento, que sejam eficazes na remoção deste tipo de contaminantes, é uma questão da maior pertinência.

Nestas circunstâncias, o presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a viabilidade de utilização de resíduos de casca de noz (*Juglans regia* L.) na remoção dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol. A procura de materiais adsorventes naturais tem sido uma constante, permitindo aliar vantagens ambientais a benefícios económicos, ao possibilitar converter resíduos, normalmente indesejáveis e com custos de eliminação/deposição, em matérias-primas.

O trabalho desenvolvido compreendeu as seguintes etapas:

- Caracterização dos adsorventes selecionados (casca de noz) e desenvolvidos (casca de noz modificada quimicamente e carvão ativado).
- Avaliação do desempenho dos adsorventes na remoção dos antibióticos em estudo.
- Preparação de carvões ativados, tendo como material precursor, resíduo de casca de noz.
- Avaliação da influência de alguns parâmetros na produção de carvão ativado, com vista à sua otimização.
- Avaliação do desempenho do melhor carvão ativado produzido. Estudos de cinética e de equilíbrio. Avaliação da influência de alguns fatores no processo de sorção através de metodologias de desenho experimental.



## **CAPÍTULO II**

### **MATERIAIS E MÉTODOS**



## 1 OS ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos selecionados, Metronidazol (Ref<sup>a</sup> 68035) e Sulfametoxazol (Ref<sup>a</sup> S7507), foram adquiridos à empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Soluções individuais padrão, de concentração 1000 mg/L foram preparadas, por pesagem rigorosa (balança analítica Mettler Toledo AG-245, Zurique, Suíça) e diluição em metanol (Lichrosolv, Merck, Darmstadt, Alemanha). Estas soluções foram guardadas em frascos de vidro âmbar a - 18 °C, tendo-se revelado estáveis, durante todo o período de utilização (3 a 4 meses). Prepararam-se, a partir destas soluções padrão, periodicamente, soluções padrão individuais de 100 mg/L (padrão intermédio), em água destilada e filtrada, por membrana de *nylon* de 45 µm (Supelco, Sigma-Aldrich). Estas soluções foram guardadas em frascos de vidro âmbar a 4 °C, por períodos inferiores a 1 semana. Diversas soluções padrão (individuais ou contendo os dois antibióticos) foram preparadas, diariamente, partindo dos padrões intermédios por diluição em água destilada e filtrada.

## 2 MÉTODO ANALÍTICO

Para avaliar a eficiência de remoção dos antibióticos (Metronidazol e Sulfametoxazol) por sorção, foi necessário desenvolver e validar uma metodologia analítica que permitisse quantificar os antibióticos. A metodologia selecionada foi a HPLC-DAD. As análises foram efetuadas num sistema cromatográfico LaChrom da Merck-Hitachi (Tóquio, Japão) constituído por uma bomba L-7100, injetor automático L-7250, detetor de díodos (DAD) L-7450 e sistema de aquisição e tratamento de dados HSM D-7000. Utilizou-se uma coluna, C18 de fase reversa, Pursopher®STAR *endcapped* (250 mm x 4 mm; 5 µm) em conjugação com uma pré-coluna também Pursopher®STAR (4 mm x 4 mm; 5 µm) da marca Merck. As análises cromatográficas foram efetuadas à temperatura ambiente, por injeção de 100 µL de amostra. As respostas foram monitorizadas na gama de comprimentos de onda compreendida entre os 220 e 400 nm. Metronidazol foi quantificado a 316 nm e Sulfametoxazol ao comprimento de onda de 270 nm. A fase móvel foi constituída por uma fase aquosa (20 mM em ácido cítrico com pH ajustado a 2,50±0,02) e acetonitrilo, alimentada a um caudal de 0,8 mL/min. Na análise de Metronidazol, a fase móvel usada consistiu em 90 % de fase aquosa, e 10 % acetonitrilo, em modo isocrático. Sulfametoxazol foi analisado com uma fase móvel, constituída por 75 % de fase aquosa e 25 % em acetonitrilo, também em modo isocrático.

### 3 OS ADSORVENTES

Selecionaram-se, numa fase inicial de ensaios exploratórios, dois materiais de natureza lignocelulósica: casca de noz e de amêndoa (originárias da região do Alto Douro e Trás-os-Montes). Ambos os materiais são excedentes da indústria de processamento de frutos secos e foram gentilmente disponibilizados pela empresa Carqueja Almonds (Zona Industrial da Maia). Atendendo aos resultados obtidos nos ensaios preliminares, deu-se continuidade ao trabalho seleccionando para o efeito a casca de noz.

#### 3.1 CASCA DE NOZ

A casca de noz foi recebida em “bruto” tendo sido necessário proceder a uma seleção prévia e lavagem em água corrente, seguindo-se uma etapa de secagem a 50 °C – 70 °C, por um período de 48h. Os materiais foram moídos, em duas etapas (moinhos Retsch KG 5657 e *Retsch ZM 100*), e separados por granulometrias (agitador de peneiros *Retsch AS 200* e peneiros *Restch* com aberturas de 160, 250, 500, 710 e 1000 µm). As frações granulométricas seleccionadas para prosseguir trabalho foram lavadas com água destilada, filtrada por membrana de *nylon* 0,45 µm (Supelco, Sigma-Aldrich). Após decantação do excesso de água o material foi recuperado por filtração sob vácuo e seco a 105±2 °C, por um período de 48 h. Os materiais foram mantidos em exsiccador até ao momento da sua utilização.

A casca de noz foi objecto de dois tratamentos químicos simples – tratamento ácido e alcalino [228–230]. Para o efeito, seleccionou-se a fração granulométrica compreendida entre 250 e 500 µm que foi colocada em contacto (na razão de 1 g de casca por 10 mL de solução) com uma solução de HCl (0,1 mol/L) ou NaOH (3 % m/m), à temperatura ambiente durante um período de 24 e 1 h, respetivamente. O material tratado foi filtrado e lavado com água, para remoção do excesso de produtos químicos, sendo posteriormente seco em estufa, a 105 °C, durante 48 h. Os materiais foram mantidos em exsiccador até ao momento da sua utilização.

#### 3.2 CARVÃO ATIVADO

A casca de noz, material precursor para a produção do carvão ativado utilizado neste trabalho, foi sujeita ao conjunto de operações de seleção e preparação, semelhante ao já descrito no ponto anterior, tendo sido seleccionada a fração granulométrica, compreendida entre 1000 e 2000 µm. Este material foi carbonizado a 300 °C durante 1 hora (rampa de aquecimento de 10 °C/min para uma temperatura inicial de 25 °C), em atmosfera inerte (caudal de N<sub>2</sub> de 200 mL/min), num forno pirolítico vertical (forno tubular vertical tipo split da Termolab acoplado a um programador digital FP21 e controlador SR25, ambos da Shimaden). No início de cada ensaio, a atmosfera do forno era inertizada, durante 15 minutos, por passagem de N<sub>2</sub> com caudal

de 700 mL/min e só depois ajustado para as condições de trabalho (200 mL/min). O de azoto manteve-se durante todo o período de arrefecimento do forno, até se atingir a temperatura ambiente e, só aí, interrompido. O material carbonizado produzido foi armazenado tal qual, sem qualquer manipulação adicional, até ao momento da sua ativação química.

### 3.2.1 Produção Carvão Ativado – Ativação Química

Como agente ativante, selecionou-se o  $K_2CO_3$  (EMSURE®, Merck). O material precursor (casca noz carbonizada de acordo com o ponto anterior), foi colocado em contacto com soluções do agente ativante, à temperatura ambiente, durante 4 h e com agitação, de modo a garantir uma impregnação mais uniforme do material e uma plena ação do ativante. A mistura foi posteriormente deixada em repouso até à evaporação da solução impregnante residual, sendo ainda sujeita a uma etapa de secagem a 105 °C por um período de 8 h, num total de aproximadamente 24 h de preparação (impregnação e secagem).

Após a etapa de impregnação, o material foi queimado/ativado no forno pirolítico, nas condições já descritas (atmosfera inerte de  $N_2$  com um caudal de 200 mL/min, rampa de aquecimento de 10 °C/min, temperatura inicial de 25 °C), durante 1 h, para condições de temperatura de ativação, variáveis, compreendidas entre os 700 e 900 °C.

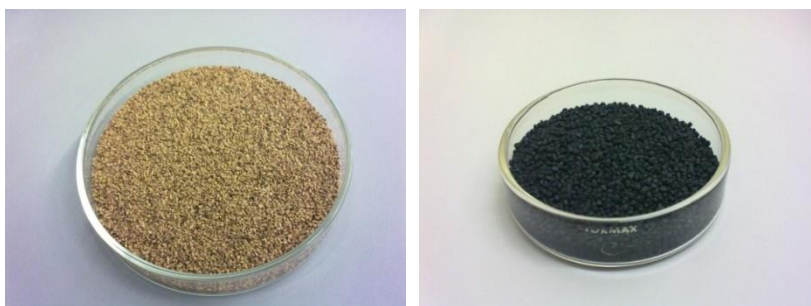
Após a ativação, o carvão foi lavado, para remoção do excesso de agente de ativação, inicialmente a quente, até valores de pH próximos da neutralidade na água de lavagem, sendo depois lavado com água destilada (filtrada por membrana de nylon 0,45 µm), à temperatura ambiente, até atingir valores de pH compreendidos entre 5,6 a 5,8 (valores de pH da água destilada disponível no laboratório). Após decantação do excesso de água, o material era ainda lavado e recuperado por filtração, sob vácuo, seguindo para uma etapa de secagem a 105 °C, por um período de 48 h, arrefecendo posteriormente em exsicador e, aí permanecendo, até ao momento da sua utilização.

A metodologia empregue na produção do carvão ativado foi adaptada da literatura consultada [231-236]. Procurou-se estudar e otimizar dois parâmetros, considerados fundamentais no procedimento de ativação: a temperatura e a razão material precursor *versus* reagente ativante (razão de impregnação). Realizaram-se ensaios para temperaturas compreendidas entre os 700 e 900 °C e para razões mássicas de 1:1 até 1:2. Os ensaios foram planeados de acordo com uma metodologia fatorial -  $2^2$  (dois fatores a dois níveis, com ponto central) cujas condições estão descritas na Tabela 10.

**Tabela 10** Valores reais e codificados, adotados para os fatores temperatura e razão de impregnação.

Fatores	Fatores Codificados	Nível		
		-1	0	1
T (°C)	X <sub>1</sub>	700	800	900
Razão Impregnação	X <sub>2</sub>	1:1	1:1,5	1:2

Para cada amostra de carvão ativado obtida, foram realizadas caracterizações texturais por porosimetria de mercúrio, BET e SEM, sendo ainda estimado o ponto de carga zero ( $pH_{pcz}$ ) e avaliada a respetiva capacidade de sorção para cada um dos antibióticos.

**Figura 6** Casca de noz (material precursor) e carvão ativado produzido.

## 4 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E TEXTURAL

#### 4.1.1 Distribuição granulométrica

A distribuição granulométrica dos adsorventes foi determinada por espectrometria de difração a laser (*Coulter Counter LS 230*) usando etanol como meio de dispersão. Os ensaios foram realizados em duplicado.

#### 4.1.2 Porosidade, Área superficial, Massa específica aparente e real

A porosidade, área superficial e a massa específica aparente foram determinadas por porosimetria de mercúrio (*Quantachrome, Poremaster 60*). A massa específica real foi determinada por picnometria de hélio (*Quantachrome UPY-100*). Todos os parâmetros foram avaliados em duplicado.

#### 4.1.3 Área superficial – Método BET

As isotérmicas de adsorção de azoto, a 77 K, foram determinadas usando o equipamento Autosorb<sup>TM</sup> Quantachrome acoplado ao sistema de aquisição Quantachrome AS1Win<sup>TM</sup>. A aplicação da equação do Modelo BET (Brunauer-Emmett-Teller) aos resultados experimentais, na gama de linearidade, permitiu determinar as áreas específicas dos materiais.

#### 4.1.4 Microscopia eletrónica de varrimento (SEM)

As análises da superfície dos materiais foram realizadas no Centro de Materiais da Universidade do Porto (CEMUP) no microscópio eletrónico FEI Quanta 400 FEG ESEM/EDAX Pegasus X4M. O recurso a esta técnica permitiu, ainda, estimar a composição elementar, à superfície, dos adsorventes. As amostras foram revestidas, num pulverizador catódico (JEOL JFC 1100) com uma fina película de ouro, de forma a tornar a superfície condutora e as imagens de varrimento da superfície obtidas com uma voltagem de aceleração de 10 kV e 15 kV.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

### 4.2.1 Análise Elementar

A composição elementar das amostras foi determinada num analisador elementar CHNS-O Carlo ERBA EA 1108, acoplado a um sistema de controlo, aquisição e tratamentos de dados Eager 200, no Laboratório de Catálise e Materiais da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (LCM). A determinação dos elementos foi realizada através da combustão, a 1020 °C, de 4 mg de amostra (pesadas rigorosamente;  $\pm 0,001$  mg) e os ensaios realizados em triplicado. A análise dos produtos de combustão, por cromatografia gasosa com detetor de condutividade térmica, e a quantificação por calibração com um padrão de sulfonilamida ( $C_6H_8N_2O_2S$ ), permitiram estabelecer a percentagem de cada um dos elementos (carbono, hidrogénio, azoto e enxofre, sendo que o oxigénio é obtido pela diferença para os anteriores) nas amostras em análise.

### 4.2.2 Análise termogravimétrica

A análise imediata dos materiais (teor de humidade, de voláteis, carbono fixo e cinzas) foi realizada por termogravimetria, num sistema de análise térmica TG 209 F1 Iris® Netzsch do laboratório LEPAE. Uma amostra 25 mg foi aquecida em atmosfera de azoto ( $30\text{ cm}^3/\text{min}$ ) desde os 25 °C até aos 950 °C, a 25 °C/min, seguido de um patamar isotérmico de 29 minutos, sendo que nos últimos 20 minutos, o gás foi alterado para  $O_2$  ( $30\text{ cm}^3/\text{min}$ ). A perda de massa ocorrida entre os 25 e 110 °C e entre 110 e 950 °C, para uma atmosfera de azoto (atmosfera inerte), corresponde, respetivamente, ao teor de humidade e fração de voláteis. O carbono fixo corresponde à perda de massa observada na segunda fase do patamar isotérmico (últimos 20 minutos) na presença de oxigénio (atmosfera oxidante). O resíduo final corresponde ao teor de cinzas da amostra.

### 4.2.3 Análise por espectrometria de infravermelho próximo

As amostras de adsorvente foram previamente trituradas num almofariz elétrico (Retsch ZM) para obtenção de um pó muito fino e secas numa estufa a 105 °C. Prepararam-se pastilhas em KBr (3 a 6%, m/m, em amostra), que foram analisadas num espectrómetro FTIR Bomem, Arid-Zone<sup>TM</sup> 1540. As análises foram realizadas à temperatura ambiente, para 20 varrimentos/minuto, no intervalo de números de onda de  $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$  e com uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ .



#### 4.2.4 Análise por espectroscopia de fotoeletrões de raio X (XPS)

A caracterização da química da superfície (composição elementar, ligações químicas e respetivos grupos funcionais) foi realizada por espectroscopia de fotoeletrões X (XPS), num espectrómetro ESCALAB 200A – VG Scientific, do Centro de Materiais da Universidade do Porto (CEMUP). Foi utilizada uma fonte de raios-X, monocromática, com ânodo de Al operando a 15 kV (300 W) que incidiu na amostra de espessura bastante fina (1 a 2 mm; as amostras foram previamente prensadas na forma de uma pastilha com cerca de 12 mm de diâmetro), colocada numa câmara mantida sob vácuo de  $10^{-9}$  torr. Foram registados três espetros, por cada amostra. Um espetro de varrimento de baixa resolução (*survey spectra*; resolução de 1,0 eV e energia de passagem de 50 eV), a partir do qual foi possível identificar os elementos presentes e estimar a sua concentração relativa (a razão entre os elementos é calculada baseada num fator de sensibilidade e a área do pico do espetro relativa a cada elemento).

Os espetros de elevada resolução foram registados, para as regiões C1s (278,6 – 296,5 eV) e O1s (526,9 - 546,6 eV), com uma resolução de 0,1 eV e energia de passagem de 20 eV. A desconvolução dos espetros de elevada resolução permitiu analisar as ligações químicas dos elementos detetados à superfície das amostras. O procedimento de desconvolução foi realizado com o programa informático XPSPeak (Versão 4.1), por ajuste das curvas pelo método dos mínimos quadrados, de acordo com as classes de ligação e energias características.

#### 4.2.5 Determinação do pH no ponto de carga zero ( $\text{pH}_{\text{pcz}}$ )

O pH no ponto de carga zero ( $\text{pH}_{\text{pcz}}$ ) foi determinado através do método da variação de pH [237,238]. Colocaram-se 50 mL de solução 0,01 M de NaCl em contacto com adsorvente (50 mg de casca de noz natural e modificada ou 25 mg de carvão ativado), em matrizes fechados, a 20 °C e com agitação constante por um período de 48 h. O pH das soluções ( $\text{pH}_{\text{inicial}}$ ) foi previamente ajustado para valores de pH compreendidos entre 2 e 10 por adição de soluções diluídas de HCl ou NaOH (as soluções de NaCl foram desgaseificadas e durante o ajuste de pH fez-se borbulhar azoto através da solução). No fim das 48 h, o valor de pH foi registado ( $\text{pH}_{\text{final}}$ ). O  $\text{pH}_{\text{pcz}}$  corresponde ao valor de pH para o qual a curva de  $\text{pH}_{\text{final}}$  vs.  $\text{pH}_{\text{inicial}}$  intersesta a linha  $\text{pH}_{\text{final}} = \text{pH}_{\text{inicial}}$ . Os ensaios foram realizados em duplicado, numa cabine refrigerada, com controlo termostático da temperatura, da Lovibond ET626 e placas de agitação magnética Velp Scientifica MultiStirrer 15. Usaram-se soluções de HCl e NaOH (TitriPUR®, Merck) e cloreto de sódio, (AnalaR NormaPur®, BDH Prolabo). O cloreto do sódio foi previamente seco a 200 °C e guardado em exsicador até ao momento de utilização. O pH foi medido num Crison GLP 21, com eletrodo combinado de vidro, calibrado com soluções tampão 4, 7 e 9 (CertiPUR®, Merck).

#### 4.2.6 Determinação da basicidade e acidez totais

Pesaram-se 100 mg de carvão ativado (pesados rigorosamente  $\pm 0,01$  mg amostra) para matrizes de 50 mL de capacidade. Para a determinação da basicidade, adicionaram-se 25,00 mL de solução de HCl 0,05 M e a acidez foi estimada por adição de 25,00 mL de solução de NaOH 0,1 M às amostras. Os matrizes foram selados e colocados durante 48 h a 20 °C e sob agitação constante (estufa Lovibond ET626; placa de agitação magnética Velp Scientifica MultiStirrer 15). As soluções foram recuperadas por filtração e tomas de 10,00 mL foram tituladas com HCl 0,1 M ou NaOH 0,1 M. As soluções de HCl e NaOH 0,1 M (padronizadas) foram adquiridas (TitriPUR®, Merck). As restantes soluções foram preparadas por diluição rigorosa em água filtrada, por membrana de nylon de 0,45  $\mu\text{m}$ , e desgaseificada. Os ensaios foram realizados em duplicado e, em simultâneo, foram também efetuados ensaios em branco.

#### 4.2.7 Determinação dos grupos funcionais à superfície do carvão ativado

Os grupos funcionais superficiais (carboxílicos R-COOH; lactónicos R-OCO; fenólicos R-OH; carbonilos/quinonas R=O) foram estimados com base no método de *Boehm* (neutralização seletiva dos grupos funcionais) [153]. Os seguintes pressupostos foram assumidos:

- i) NaOH 0,1 M reage com todos os grupos (R-COOH, R-OCO, R-OH e R-C=O).
- ii) NaOH 0,01 M não reage com o grupo R-C=O.
- iii)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,01 M não reage com R-C=O nem R-OH e permite portanto avaliar os grupos R-COOH e R-OCO.
- iv)  $\text{NaHCO}_3$  0,01 M apenas reage com o grupo R-COOH.

A execução experimental seguiu o procedimento descrito no ponto anterior. Aproximadamente, 100 mg de carvão ativado foram colocadas em contacto com as diferentes soluções, por um período de 48 h a 20 °C, e com agitação constante. As soluções foram recuperadas por filtração, e tomas de 10,00 mL foram tituladas com HCl 0,1 M (TitriPUR®, Merck). As soluções de  $\text{NaHCO}_3$  e  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Riedel-de Haën, Sigma-Aldrich) foram preparadas por pesagem e diluição rigorosa, em água filtrada por membrana de *nylon* de 0,45  $\mu\text{m}$  e desgaseificada, e as suas concentrações aferidas por titulação. A determinação da concentração, à superfície, de cada grupo foi obtida por diferença entre os resultados das neutralizações realizadas.

## 5 ENSAIOS DE SORÇÃO

### 5.1 CASCA DE NOZ

Numa primeira fase, procurou-se avaliar o desempenho na remoção dos antibióticos em estudo (Sulfametoxazol e Metronidazol) pelo adsorvente sem recorrer a tratamentos (químicos ou físicos). Calcularam-se as capacidades de sorção,  $q$  (mg/g), e/ou as eficiências de remoção, percentagem de remoção (% R), para cada um dos sistemas antibiótico/adsorvente em estudo, de acordo com as seguintes expressões:

$$q = \frac{(C_i - C_t) \times V}{m} \quad \text{Equação 1}$$

$$\% R = \frac{C_i - C_t}{C_i} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Em que  $C_i$  e  $C_t$  correspondem, respetivamente, à concentração inicial e no instante  $t$  expressas em mg/L,  $V$  (L) representa o volume de solução em contacto com uma dada massa de adsorvente,  $m$  (g).

Testaram-se, inicialmente, duas granulometrias, 500 – 710  $\mu\text{m}$  e 250 – 500  $\mu\text{m}$ . Os tempos de contacto utilizados foram fixados com base em experiências prévias, tendo sido empregues tempos superiores aos determinados nos ensaios (96 h), por forma a garantir que o equilíbrio de adsorção era atingido em todas as condições testadas.

Pesaram-se, para matrizes de 100 mL, 500 mg (incerteza de  $\pm 0,01$  mg) de casca e adicionou-se 50 mL (medidos rigorosamente) de solução aquosa de antibiótico (concentrações compreendidas entre 0,5 e 5 mg/L). Os matrizes foram fechados e colocados a 20 °C (estufa ET626 da *Lovibond*) e o contacto entre a fase sólida e líquida foi promovido por agitação magnética (placas *MultiStirrer 15*, *Velp Scientifica*). No final dos ensaios, as amostras foram inicialmente filtradas através de filtro quantitativo (grau 474 da VWR), com retenção de partículas entre 5 e 8  $\mu\text{m}$  e posteriormente com filtro de seringa, com membrana de PTFE de 0,2  $\mu\text{m}$  (VWR). Realizaram-se ainda dois tipos de ensaios *em branco*, isto é, ensaios contendo apenas o adsorvente e ensaios contendo apenas a solução de antibiótico. Todos os ensaios foram efetuados em duplicado e as amostras foram mantidas a 4 °C ou congeladas até serem analisadas. O valor de pH foi sempre medido, quer nas condições iniciais, quer no fim dos ensaios.

### 5.1.1 Influência do pH

A influência no processo de sorção do pH foi também avaliada de acordo com a metodologia experimental acima indicada. O efeito do pH foi estudado para o antibiótico Sulfametoxazol na gama compreendida entre 2 e 8, e para o antibiótico Metronidazol, realizaram-se ensaios a pH 2, 4 e 7. Na avaliação deste parâmetro, usaram-se soluções tampão de citrato (20 mM) para valores de pH 2 a 5, e tampão fosfato (20 mM) para pH 6, 7 e 8. Inicialmente, ajustou-se apenas o pH inicial ao valor desejado mas a variação de pH observada ao longo do tempo fez com que se optasse por tamponar o meio. Este estudo foi realizado para a granulometria compreendida 250 – 500  $\mu\text{m}$  e para uma concentração de antibiótico de 0,5 mg/L.

### 5.1.2 Estudos de Sorção

Foram realizados estudos de sorção com fração granulométrica 250 – 500  $\mu\text{m}$  para diferentes condições de pH (2, 4 e 7), a 20 °C. Na determinação experimental, utilizou-se uma dosagem de adsorvente de 500 mg e soluções com concentração inicial de antibiótico variável (concentrações compreendidas entre 0,5 e 5 mg/L). O procedimento experimental foi executado de acordo com o descrito no início deste item.

## 5.2 CARVÃO ATIVADO

### 5.2.1 Equilíbrio de Sorção – Sistema monocomponente

Os ensaios realizados para avaliação do desempenho do carvão ativado produzido seguiram a metodologia experimental descrita no item 5.1. As principais alterações prenderam-se com as quantidades, quer de adsorvente, quer de sorbato usadas em virtude da maior capacidade de sorção deste material. Utilizaram-se dosagens de adsorvente de 10, 25 e 50 mg e soluções de antibiótico com concentrações compreendidas entre 0,5 e 60 mg/L. A granulometria do material usado esteve compreendida entre 710 – 1000  $\mu\text{m}$ .

O efeito do pH foi estudado na gama compreendida entre 2 e 10. Na avaliação deste parâmetro usaram-se soluções tampão de citrato (20 mM) para valores de pH 2 a 5, e tampão fosfato (20 mM) para a gama de 6 a 10.

O efeito da força iônica, na remoção, foi avaliado para condições de pH 2, 6 e 8. Prepararam-se soluções de antibiótico, de concentração 5 e 40 mg/L, para forças iônicas de 50 mM e 100 mM, em NaCl (EMSURE®, Merck), e sem controle de força iônica.

Para o estudo da cinética de adsorção foram avaliados os efeitos da concentração inicial de antibiótico, da temperatura e do pH. Os ensaios foram realizados em matrizes de 1 L de capacidade, devidamente selados, para massas de adsorvente de 200,0 e 500,0 mg e concentrações de antibiótico de 5 e 40 mg/L. A influência da temperatura foi avaliada para 10, 20 e 30 °C. O efeito do pH foi avaliado para os valores de 2, 6 e 8 (em meio tamponado) e exclusivamente para a temperatura de 20 °C.

O volume total das amostras recolhidas ao longo do tempo representou, no máximo, 1,8 % (v/v) do volume inicial de solução de antibiótico. A quantidade removida por unidade de massa de adsorvente ( $q_t$ ), em cada instante, foi calculada por balanço material (equação 1).

### 5.2.2 Equilíbrio de Sorção – Planeamento Experimental Box-Behnken

Uma vez que a eficiência do processo de remoção é influenciada pelas condições operacionais, tais como pH e temperatura, iniciou-se o estudo realizando-se alguns ensaios exploratórios de avaliação da influência destas variáveis. Os resultados obtidos permitiram planejar um novo conjunto de ensaios, de acordo com uma estratégia de planeamento fatorial, com o objetivo de avaliar o grau de influência das variáveis selecionadas, bem como das possíveis interações, com vista à compreensão e otimização das condições operatórias. Para o efeito, selecionou-se o desenho *Box-Behnken*. Consideraram-se como fatores, para além do pH e da temperatura, a concentração inicial de antibiótico, e como resposta a quantidade adsorvida no equilíbrio por unidade de massa de adsorvente. Para cada um destes factores, foram considerados 3 níveis (-1, 0, +1; inferior, médio e superior) de acordo com a Tabela 11.

**Tabela 11** Domínio de estudo das variáveis selecionadas de acordo com o desenho Box-Behnken.

Fator	Nível		
	-1 (inferior)	0 (médio)	1 (superior)
pH	2	5	8
T (°C)	10	20	30
C <sub>in</sub> (mg/L)	20	30	40

O desenho selecionado implicou a realização de 12 ensaios em triplicado e 6 pontos centrais, num total de 42 ensaios para cada um dos antibióticos. A dosagem do adsorvente foi fixada em 0,2 g/L e o procedimento experimental foi similar ao utilizado para determinar os pontos experimentais das isotérmicas de equilíbrio. A análise dos resultados e a validação estatística dos modelos foi efetuado com recurso ao *software JMP 5.0.1*.

### 5.2.3 Equilíbrio de Sorção – Sistema bicomponente

A determinação dos dados de equilíbrio, em sistema bicomponente, foi realizada à temperatura de 20 °C e para valores de pH de 2, 5, 6 e 8. A dosagem do adsorvente foi fixada em 0,2 g/L, para uma razão entre concentrações iniciais de antibiótico de 1:1, e concentrações iniciais de antibiótico compreendidas entre 0,5 mg/L e 40 mg/L. A execução experimental seguiu, de resto, o procedimento já descrito para a determinação de isotérmicas em sistema monocomponente (item 5.2.1 deste capítulo).

### 5.2.4 Equilíbrio de Sorção – Planeamento Experimental Composto e Centrado (CCD)

Com o objetivo de avaliar a influência das variáveis pH e concentração na capacidade de adsorção dos antibióticos em sistema bicomponente, recorreu-se ao desenho experimental composto e centrado (CCD – *Central Composite Design*). Os ensaios foram realizados à temperatura de 20 °C e para uma dosagem de adsorvente de 0,2 g/L. O planeamento experimental totalizou 18 ensaios (um ponto central), com todos os ensaios realizados em duplicado, numa sequência aleatória, e de acordo com os níveis apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12** Valores atribuídos para cada nível das variáveis de controlo consideradas no plano fatorial composto e centrado (CCD)

Fator	Nível		
	-1 (inferior)	0 (médio)	1 (superior)
pH	2	5	8
C <sub>in</sub> (mg/L)	10	25	40

A análise dos resultados e a validação estatística dos modelos foi efetuada com recurso ao *software JMP 5.0.1*.

## 5.3 TRATAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS

Todos os resíduos líquidos foram recolhidos em recipientes fechados, devidamente rotulados e armazenados ao abrigo da luz e de fontes de ignição, para posterior tratamento, por parte do sistema de gestão ambiental da FEUP-EcoFEUP. Os resíduos sólidos gerados (casca de noz e carvão ativado contendo Metronidazol e/ou Sulfametoxazol) foram armazenados em recipientes fechados e encaminhados para posterior tratamento por incineração.

## **CAPÍTULO III**

# **RESULTADOS E DISCUSSÃO**





## 1 MÉTODO ANALÍTICO

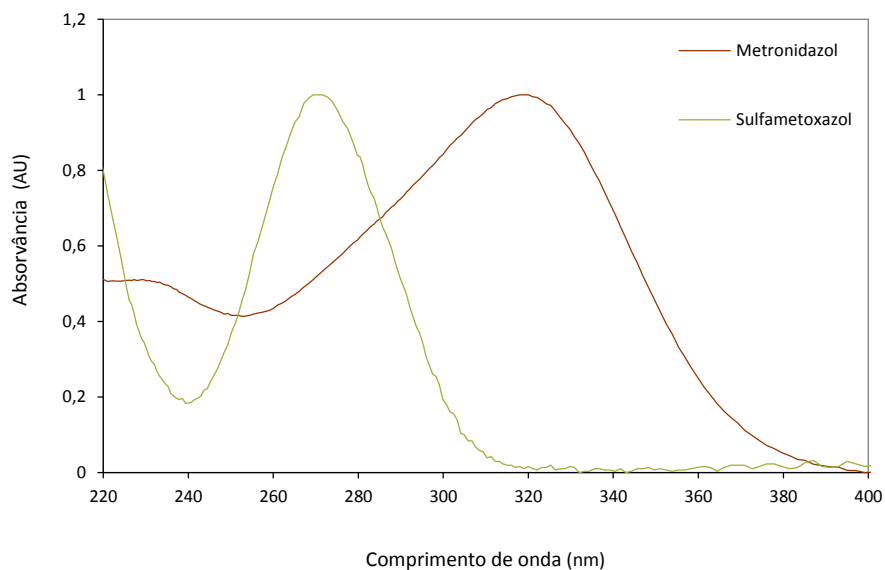
A presença de quantidades vestigiais de centenas de fármacos, nas mais diversas amostras ambientais, requer, para a sua identificação/determinação, sofisticadas metodologias analíticas que possuam não só elevada seletividade e robustez mas também limites de detecção muito baixos. A necessidade de avaliar o risco ambiental, que a presença destas substâncias pode constituir, motivou nos últimos anos o desenvolvimento de várias abordagens analíticas. A grande maioria envolve uma etapa de preparação das amostras por extração em fase sólida (SPE), normalmente com a finalidade de pré-concentrar os analitos e remover interferentes da matriz, e uma segunda etapa de separação cromatográfica [26,109,110,239-241]. A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS) é, pela elevada seletividade, a técnica de eleição para a identificação e monitorização da presença, no ambiente, de resíduos de diversas classes de fármacos, onde se incluem os antibióticos [74,242-244].

Embora esta técnica constitua uma ferramenta poderosa, que permitiu alargar o espectro de aplicação da espectrometria de massa a compostos mais polares, normalmente termolábeis, o seu elevado custo e tempo de operação limitam a sua aplicabilidade. O uso de LC-MS é incontornável quando o objetivo é a identificação e confirmação da presença, em matrizes complexas, de inúmeras substâncias químicas e dos seus produtos de degradação. No entanto, é vantajosamente substituída pela cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a um detetor de díodos (DAD) ou até de fluorescência, dependendo das características dos analitos, quando o objetivo é a quantificação numa matriz bem definida [110,245,246].

### 1.1 DESENVOLVIMENTO DA ANÁLISE CROMATOGRÁFICA POR HPLC-DAD

Para a determinação analítica dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol, selecionou-se a técnica de cromatografia líquida de elevada eficiência hifenada com um detetor de díodos (HPLC-DAD). Esta técnica analítica possui a fiabilidade e rapidez de resultados adequada aos objetivos e características do presente trabalho.

A identificação cromatográfica dos compostos foi obtida por comparação dos tempos de retenção e espectros (Figura 7) com os observados por injeção das respetivas soluções padrão, assim como através da função pureza do pico. Estes três parâmetros permitiram a identificação inequívoca dos antibióticos, em todas as análises efetuadas.



**Figura 7** Espectros de absorção de Metronidazol e Sulfametoxazol obtidos na análise por HPLC-DAD de soluções padrão individuais a pH 6.

Na definição das condições cromatográficas (descritas no capítulo II, secção 2), procurou-se estabelecer um compromisso entre o menor tempo de análise, de volume de resíduos gerados e a obtenção de picos com boa resolução e simetria. Os tempos de retenção médios observados, nas condições operatórias otimizadas, foram de  $5,8 \pm 0,2$  e  $6,2 \pm 0,2$  min.

A influência do pH das soluções, nas propriedades de absorção no UV, foi avaliada para ambos os antibióticos. Para o Metronidazol, a variação do valor de pH não exerceu influência significativa (para um nível de confiança de 95 %) na resposta do detetor. No entanto, para Sulfametoxazol, o efeito do pH não é negligenciável. Verificou-se que o pH e, conseqüentemente, a especiação do antibiótico em solução afeta de forma significativa as propriedades de absorção no UV. A quantificação de Sulfametoxazol exigiu a elaboração de curvas de calibração para toda a gama de pH considerada nos estudos desenvolvidos e cujos resultados podem ser consultados no Anexo A. Os resultados relativos ao estudo da avaliação do pH na resposta instrumental foram igualmente remetidos para o Anexo A. Nas secções seguintes, apenas se apresentam os resultados relativos a validação do método analítico obtidos para pH 6.

## 1.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA ANÁLISE DOS ANTIBIÓTICOS METRONIDAZOL E SULFAMETOXAZOL

A validação do método analítico constitui um requisito fundamental na obtenção de resultados. Pretende-se, através da metodologia de validação, fornecer evidência objetiva de que determinados requisitos específicos são observados, isto é, a validação tem como objetivo demonstrar que o método analítico é apropriado para a finalidade proposta [247-249]. Os estudos de validação de métodos têm por base a determinação de parâmetros de desempenho que são obtidos durante a aplicação do método e através de estudos

interlaboratoriais ou com base em protocolos internos de validação [247-249]. A validação de uma metodologia analítica pode envolver a avaliação de parâmetros de caracterização, tais como a seletividade e a especificidade, parâmetros de quantificação, como a gama de linearidade, os limites de detecção e de quantificação, e ainda parâmetros de fiabilidade, como a precisão, a exatidão e a robustez [247-249]. Assim, os principais parâmetros (características de desempenho) considerados na validação da metodologia empregue na determinação dos dois antibióticos em estudo foram: a linearidade, o limite de detecção e de quantificação, precisão (repetibilidade e precisão intermédia), exatidão e incerteza global.

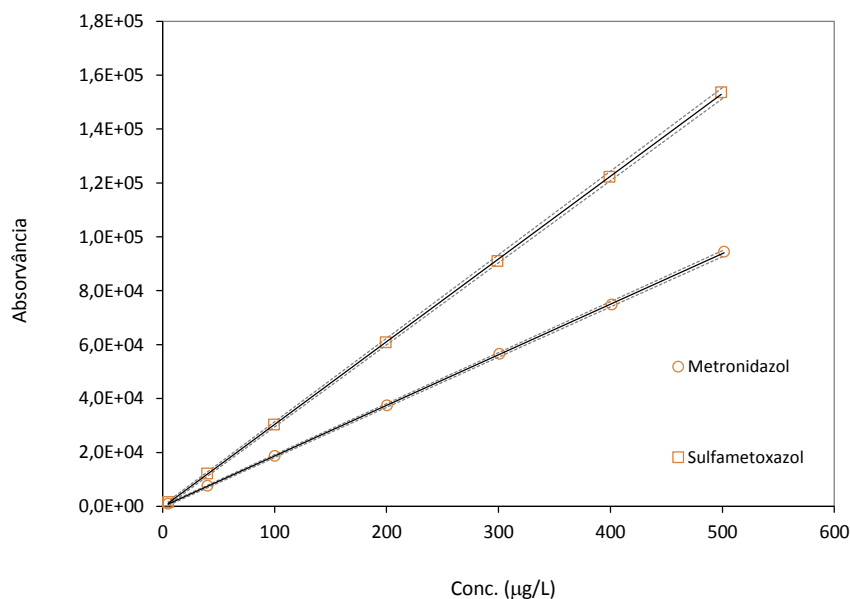
### 1.2.1 Parâmetros de validação do método analítico

A quantificação dos antibióticos foi executada por padronização externa. As curvas analíticas foram obtidas para uma gama de concentrações compreendida entre 5 e 500 µg/L, através da análise de um conjunto de sete padrões individuais injetados em duplicado. Os principais resultados obtidos são apresentados na Tabela 13. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram determinados para valores de 3 e 10 vezes a razão sinal/ruído (S/N), respetivamente.

**Tabela 13** Parâmetros do estudo de linearidade e limites analíticos obtidos, para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol, por HPLC-DAD.

	Gama de Linearidade (µg/L)	Declive	Ordenada	R <sup>2</sup>	LD (µg/L)	LQ (µg/L)
Metronidazol	5 - 500	187786±1464	- 146±412	1,0000	1,7	3,9
Sulfametoxazol	5 - 500	307176±2600	-366±728	0,9999	1,8	3,1

A qualidade do ajuste pode ser verificada, visualmente, através da representação gráfica, do modelo de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados a partir dos dados experimentais, apresentados na Figura 8. Os coeficientes de determinação obtidos corroboram também a qualidade do ajuste linear.



**Figura 8** Curvas de calibração de Metronidazol e Sulfametoxazol e respectivos intervalos de confiança (95 %).

Dois critérios adicionais são frequentemente considerados na aceitação ou rejeição da função de calibração [248;250]: i) O desvio-padrão relativo do declive deverá ser inferior a 5 %; ii) O intervalo de confiança da ordenada na origem deve conter a própria origem. Estes dois critérios verificam-se em ambos os casos. Para Metronidazol o desvio-padrão relativo do declive é de 0,3 % e para Sulfametoxazol é de 0,4 %. De modo igual verifica-se, para os dois antibióticos, que a origem está contida no intervalo de confiança das respetivas ordenadas na origem (Tabela 13).

A precisão do método analítico foi avaliada através dos parâmetros repetibilidade e precisão intermédia. A repetibilidade foi avaliada para 6 injeções consecutivas de 3 padrões sob as mesmas condições de medição, enquanto a precisão intermédia foi estimada para injeções consecutivas de 3 padrões, executadas em 3 dias distintos (10 ensaios no total). A dispersão dos resultados traduzida pelo coeficiente de variação (CV) está indicada na Tabela 14.

**Tabela 14** Estudo da precisão do método analítico para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol.

	Repetibilidade (%)			Precisão intermédia (%)		
	5 µg/L	100 µg/L	500 µg/L	5 µg/L	100 µg/L	500 µg/L
Metronidazol	8,5	0,9	0,3	10,2	0,8	0,6
Sulfametoxazol	8,0	0,7	0,6	9,2	2,0	0,9

O método apresenta uma boa precisão. A variabilidade observada para as concentrações mais elevadas está em linha com o que é comum em análises de controlo de qualidade de produtos farmacêuticos, para as quais é frequente observar valores de precisão iguais ou inferiores a 1 % [251]. Como era expectável a precisão diminui no limiar do limite de quantificação. Verificou-se, para ambos os antibióticos, que o coeficiente de variação

aumenta com a diminuição da concentração, mas para o padrão de menor concentração, os valores não excedem os 10 % (exceto a precisão intermédia de Metronidazol), o que está de acordo com as recomendações do Guia Relacre 13 [248].

Um outro critério de aceitação de desempenho do parâmetro precisão e frequentemente usado é o que tem por base a equação de Horwitz:

$$CV (\%) = 2^{1-0,5 \log C} \quad \text{Equação 3}$$

na qual CV representa o coeficiente de variação interlaboratorial (reprodutibilidade interlaboratorial) e C identifica a concentração de analito na matriz expressa em fração mássica sob a forma de uma potência de 10 (por exemplo, 100 ppb =  $10^{-7}$ ). Esta relação é suportada pela análise de mais de 10 000 dados de precisão, obtidos através de ensaios interlaboratoriais e executados de acordo com os protocolos da *Association of Official Analytical Chemists – AOAC* [252-254]. O nível de concentração surge assim como a variável que mais afeta a precisão interlaboratorial de um método analítico, verificando-se que o CV duplica por redução na concentração do analito de um fator de 100 vezes. Por exemplo, para uma concentração de 1 ppm ( $10^{-6}$ ) o coeficiente de variação (reprodutibilidade) será de 16 % e de 32 % para uma concentração de 100 ppb ( $10^{-7}$ ).

A equação de Horwitz tem demonstrado ser um bom indicador da tendência de desvio-padrão da reprodutibilidade na faixa de concentração de cerca de  $10^{-8}$  -  $10^{-1}$  (a partir de aproximadamente 10 ppb até 10 % em massa) - a "região Horwitz" [252,255,256]. Fora desta gama, e em particular para concentrações inferiores a  $10^{-8}$ , os valores de precisão previstos ou são inaceitáveis (para uma concentração de  $10^{-9}$ , a reprodutibilidade seria de 45 %) ou excessivamente pessimistas, isto é a tendência dos valores de reprodutibilidade observada é menor do que o estimado pela função. Por estes motivos, para concentrações inferiores a  $1,2 \times 10^{-7}$ , deverá ser utilizada a equação de Horwitz modificada, proposta por Thompson, que estabelece um CV constante de 22 % [255].

Os critérios de desempenho recomendam que para análises efetuadas em condições de repetibilidade o CV intralaboratorial observado deverá situar-se entre metade a dois terços do CV de reprodutibilidade estimado pela equação de Horwitz [257]. Para análises efetuadas em condições de reprodutibilidade interlaboratorial, o CV não deve exceder o CV de reprodutibilidade previsto pela equação de Horwitz [257].

Para os três níveis de concentração avaliados a reprodutibilidade (interlaboratorial) estimada pela equação de Horwitz e de Thompson é de 17,8 % para o nível superior e de 22 % para a concentração de 100 e 5 µg/L. Tomando como critério de avaliação de desempenho, para o parâmetro repetibilidade, um valor que não exceda metade do CV de reprodutibilidade estimado pela equação de Horwitz, obtêm-se como valores de referência 8,9 e 11 %. Como se pode observar na Tabela 14 a dispersão dos resultados, obtida em condições de repetibilidade não excede em nenhuma das situações consideradas estes valores. De igual forma a precisão intermédia regista valores inferiores ao CV de reprodutibilidade estimado.

A exatidão foi estimada através do método de adição padrão para um nível de concentração (100 µg/L), em triplicado. Os resultados obtidos, com valores de recuperação compreendidos entre 99,4 e 100,3 %, confirmam a inexistência de efeitos de matriz e/ou interferências no método. Não se observaram diferenças significativas (nível de confiança de 95 %), para ambos os fármacos, quer nas matrizes sintéticas quer nos brancos dos ensaios de sorção (brancos de sorção em ensaios de casca de noz e de carvão ativado).

### 1.2.2 Avaliação da Incerteza Global

A estimativa da incerteza, associada a uma medição, é fundamental para avaliar a qualidade dos resultados e constitui um imperativo legal, nomeadamente para laboratórios acreditados de acordo com a norma NP EN ISO/IEC 17025:2007. Aos laboratórios é exigido que assegurem a qualidade dos seus resultados e demonstrem a sua adequação aos fins a que se destinam, dando uma medida da confiança que neles se pode depositar. Uma medida útil da qualidade dos resultados é a incerteza da medição [247,252,253].

Por incerteza de medição deverá entender-se, de acordo com o Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM), “Um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem com razoabilidade ser atribuídos ao mensurando». A incerteza de medição poderá ser traduzida por um desvio padrão, ou um seu múltiplo ou pela largura de um intervalo de confiança [247]. As principais fontes de variabilidade, em análise química, são a amostragem, a preparação da amostra (limpeza, extração ou pré-concentração), efeitos de matriz e interferências e a calibração dos instrumentos [247]. A incerteza é uma característica intrínseca de qualquer medição e está correlacionada com a ocorrência de erros de natureza aleatória e/ou sistemática [247,253].

A incerteza final do resultado de uma medição, designada por incerteza padrão combinada, representada pelo símbolo  $u_c(y)$  (onde  $y$  representa o mensurando – o resultado analítico), decorre da combinação das incertezas de diversas fontes. No contexto da estimativa da incerteza as duas metodologias mais comuns são a *top-down* e a *bottom-up* [247,249,253,258].

A metodologia *top-down* recorre à avaliação da reprodutibilidade, obtida em ensaios colaborativos, ou da precisão intermédia (reprodutibilidade intralaboratorial), obtida em estudo de validação interna, ou ainda a dados de controlo de qualidade, para estimar a incerteza do resultado analítico. Os dados incluem, habitualmente, estimativas de reprodutibilidade, para vários níveis de resposta, uma estimativa linear da dependência de reprodutibilidade com o nível de resposta e pode incluir uma estimativa de veracidade baseada em estudos de Materiais de Referência Certificados (MRC) [250,253,258]. Esta é considerada uma metodologia mais pragmática mas com tendência a produzir estimativas por excesso [250].

A abordagem alternativa, *bottom-up*, consiste na avaliação das fontes de incerteza do método analítico passo a passo. Cada fonte de incerteza é quantificada individualmente e os seus efeitos são então combinados.

Esta abordagem requer que o analista se debruce cuidadosamente sobre todas as fontes possíveis de incerteza e requer um conhecimento detalhado da equação da medição, para que todos os fatores de influência estejam explícitos no modelo matemático e possam, assim, ser aplicados os métodos de cálculos de incerteza apropriados [247]. Pode ser de difícil implementação uma vez que as medições podem envolver um elevado número de fatores de influência e a sua quantificação individual pode ser técnica ou economicamente inviável. Na prática, um estudo preliminar permite identificar as fontes mais significativas de incerteza que controlam a incerteza total [247]. Este é um procedimento considerado mais laborioso mas possui a vantagem de permitir a uma avaliação discriminada, com um maior grau de desagregação dos fatores de incerteza, dos efeitos que afetam a qualidade da medição. Esta informação pode ser usada para otimizar o método analítico do ponto de vista metrológico e/ou conferir maior robustez aos resultados.

O processo de estimativa da incerteza de medição adotado neste trabalho teve por base a abordagem *bottom-up*, de acordo com o preconizado pelo guia da EURACHEM/CITAC [247]. Este é um documento que estabelece regras gerais para a avaliação e expressão de incerteza em análise química quantitativa. As principais etapas compreendem a identificação das fontes de incerteza, a quantificação dos componentes de incerteza, o cálculo da incerteza padrão combinada ( $u_c$ ) e expandida ( $U$ ). A incerteza expandida permite obter um intervalo dentro do qual se crê encontrar-se o valor do mensurando.  $U$  é obtido pela multiplicação da incerteza padrão combinada,  $u_c$ , por um fator de expansão  $k$ . A escolha do fator  $k$  tem por base o grau de confiança desejado, usualmente  $k$  assume o valor 2 ou 3, correspondendo a níveis de confiança de aproximadamente 95 % e 99 %, respetivamente [247].

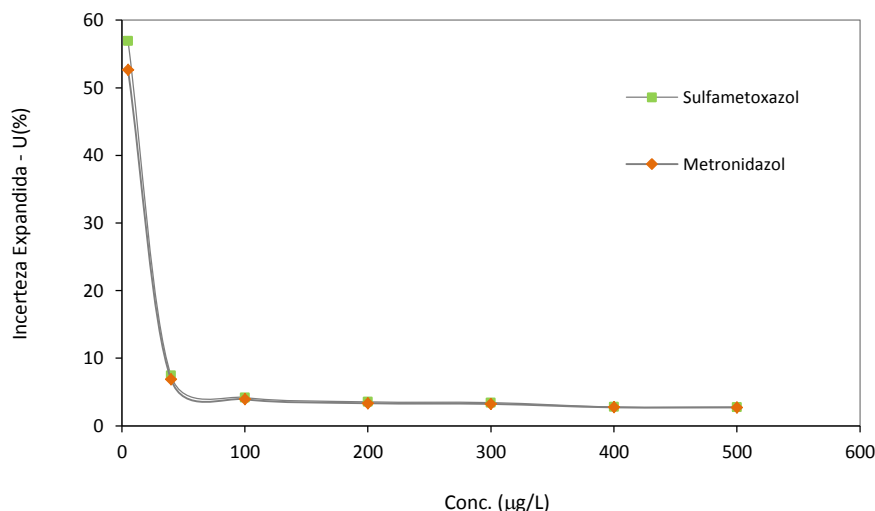
Foram consideradas como fontes principais de incerteza, no âmbito do trabalho desenvolvido, a preparação dos padrões, a calibração e a precisão. Na quantificação da incerteza associada à precisão foram considerados os resultados relativos à precisão intermédia, uma vez que esta medida de precisão é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados intralaboratoriais. Para o cálculo da certeza expandida utilizou-se um fator de expansão de 2. Os resultados das estimativas de incerteza combinada e expandida para os dois antibióticos em estudo são apresentados na Tabela 15. Na Figura 9 está representada a variação da incerteza expandida em função da concentração dos analitos.

**Tabela 15** Incerteza combinada e expandida estimada para a metodologia analítica.

	Metronidazol	Sulfametoxazol
Incerteza Combinada ( $u_c$ ) (%)	1,4 - 26,2	1,4 - 28,3
Incerteza Expandida ( $U$ ) (%)	2,7 - 53	2,7 - 57

Os valores estimados, para os dois antibióticos, são semelhantes quer no seu valor quer na sua tendência de variação. A incerteza expandida é inferior a 8 % para quase toda a gama de concentrações, registando os

valores mais baixos (1,4 %) para os padrões de maior concentração. Contudo no limiar do limite de quantificação, sobe drasticamente, excedendo os 50 %, para nível de concentração inferior.



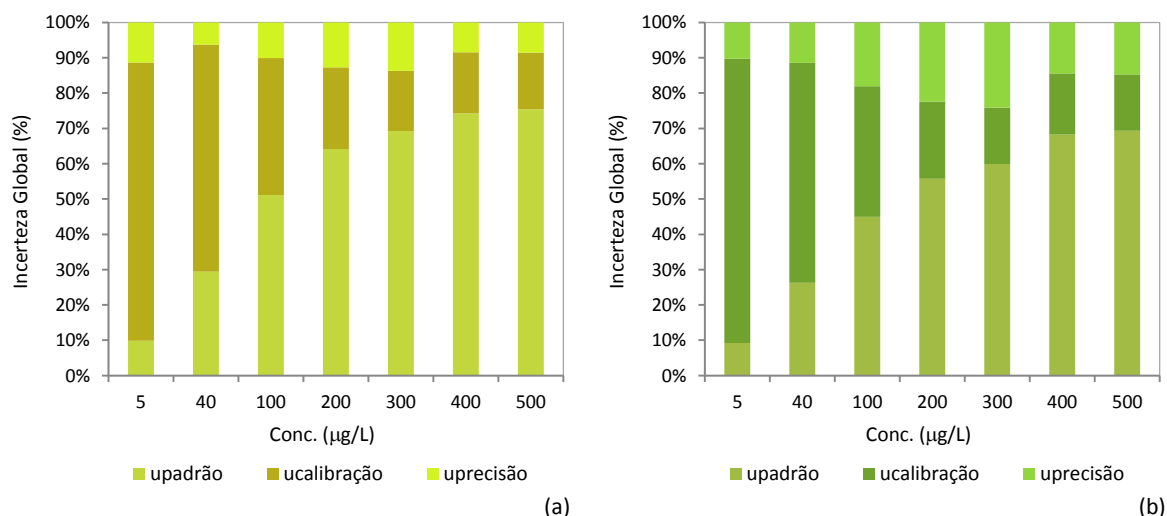
**Figura 9** Incerteza Expandida estimada para a quantificação dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol, em função da concentração, por HPLC-DAD.

Este é um resultado expectável uma vez que qualquer resultado no limiar dos limites de quantificação e deteção da zona de trabalho vem afetado de uma dúvida considerável. Para Metronidazol, a concentração real numa amostra, cujo valor determinado seja de 5 µg/L, pode situar-se entre 2 e 8 µg/L ( $5 \pm 3$  µg/L), para Sulfametoxazol, a concentração real estará também compreendida entre aproximadamente 2 e 8 µg/L. O limite inferior do intervalo de confiança regista valores muito próximos dos limites de deteção (ver Tabela 13). Este aspeto pode assumir enorme importância, nomeadamente se nesta gama de concentração se encontrarem as concentrações máximas regulamentares. Contudo, no âmbito do trabalho desenvolvido, esta não foi uma questão relevante e a incerteza estimada é adequada aos objetivos do trabalho, pelo que se manteve este nível de concentração na gama de trabalho. De um modo geral, é aconselhável que os ensaios sejam planificados de forma que, sempre que possível, a concentração a ser avaliada se situe na gama intermédia da curva de calibração. Mas, como pode ser observado na Figura 9, a incerteza global expandida na gama de concentrações compreendida entre os 100 a 500 µg/L é praticamente constante. Para 100 µg/L, a incerteza expandida é de 4 µg/L e de 14 µg/L para 500 µg/L, correspondendo a uma incerteza global expandida, expressa em %, de 2,7 e 3,9 %, respetivamente – valores observados antibiótico Metronidazol. Resultados semelhantes foram obtidos para Sulfametoxazol, como se constata na representação gráfica (Figura 9).

Na Figura 10 está representada a contribuição das incertezas individuais ( $u_{\text{padrão}}$ ,  $u_{\text{calibração}}$  e  $u_{\text{precisão}}$ ) no resultado da incerteza combinada global, em função da concentração.



A abordagem *bottom-up* tem a vantagem de permitir uma análise discriminada das fontes de incerteza e avaliar se elas devem e/ou podem ser diminuídas para conferir maior robustez aos resultados.



**Figura 10** Contribuição das incertezas individuais para a incerteza global em função da concentração para Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b).

A contribuição relativa de cada uma das fontes de incerteza é dependente da concentração dos padrões mas regista um padrão de comportamento similar para ambos os antibióticos. A incerteza associada ao parâmetro precisão apresenta-se relativamente constante. Para Metronidazol, representa menos de 14 % da incerteza global (varia entre 6,3 e 13,7 %), enquanto para Sulfametoxazol, regista maior variabilidade, sendo responsável por 24 a 10 % da incerteza global. A incerteza associada aos padrões e à calibração representa, no conjunto, em quase todos os casos, mais de 80 % da incerteza global. Para as concentrações mais baixas, a incerteza associada à calibração é a que contribui maioritariamente para a incerteza global do método, observando-se uma diminuição gradual à medida que a concentração aumenta registando-se, em contrapartida, um aumento da componente calibração. No limite superior da gama de concentrações, é preparação dos padrões que mais contribui para a incerteza que é gradualmente substituída, à medida que a concentração diminui, pela incerteza associada aos padrões.

Idealmente, pretende-se que a incerteza associada a um determinado método analítico seja a menor possível, contudo limitações de ordem técnica e/ou económica conduzem ao estabelecimento de um compromisso que permita obter uma incerteza adequada à finalidade do trabalho (*fitness-for-purpose*). O objetivo do método analítico (HPLC-DAD) desenvolvido teve como propósito principal permitir a quantificação dos antibióticos nas soluções aquosas resultantes dos ensaios de sorção. O método desenvolvido é, pela sua praticabilidade, simplicidade e capacidade de fornecer resultados com a precisão e exatidão necessária, considerado adequado aos objetivos deste trabalho.

O processo de validação permitiu demonstrar que o método de análise, nas condições operação usadas, possui as características necessárias para a obtenção de resultados com a qualidade exigida, de acordo com critérios de desempenho estabelecidos por regulamentos normativos, tais como [248,250,257]:

- i) Coeficiente de determinação ( $R^2$ ) superior a 0,99.
- ii) Precisão, expressa em termos de repetibilidade, situada entre metade a dois terços da reprodutibilidade interlaboratorial estimada pela equação de Horwitz.
- iii) Precisão, expressa em termos de precisão intermédia, inferior à reprodutibilidade interlaboratorial estimada pela equação de Horwitz.
- iv) Coeficiente de variação para padrões cuja concentração é próxima ou igual ao limiar de quantificação não deve exceder 10 %.

Todos estes requisitos foram observados pela metodologia analítica desenvolvida.

## 2 CASCA DE NOZ

A casca de noz é um dos subprodutos agrícolas da indústria de processamento de frutos secos e neste caso particular do processamento do fruto da nogueira – a noz. Em Portugal, a cultura da nogueira (*Juglans regia* L.) caracteriza-se por uma grande dispersão geográfica. Trás-os-Montes é a região com maior peso na produção de noz seguindo-se-lhe, por ordem de importância, a Beira Litoral, o Alentejo e o Ribatejo e o Oeste. Em 2005, a área de pomares de nogueiras totalizava os 3 167 hectares, com uma produção de 4 167 toneladas (valor médio de 4 465 toneladas produzidas no período de 2001 a 2005). A produção nacional tem sido insuficiente face à procura interna. As aquisições anuais de noz em casca (1 234 toneladas) correspondem a cerca de 30 % da produção nacional, registando-se um valor de vendas ao exterior insignificante (34 toneladas), dados relativos ao período de 2000 a 2004. França, Chile e Espanha são os principais fornecedores. A produção mundial de noz atingia, em 2004, as 1,5 milhões de toneladas, distribuída por três dos continentes: Ásia (52 %), Europa (23 %) e a América (23 %). A China era em 2004 o maior produtor mundial, com um volume anual de cerca de 400 mil toneladas. A União Europeia (UE-25) registava uma produção de 147 mil toneladas, destacando-se como principais países produtores: França (26 294 ton), Espanha (25 700 ton) e Grécia (21 000 ton) [259].

Estes dados permitem avaliar a dimensão da quantidade de resíduos de casca de noz que são anualmente produzidos (a casca representa cerca de 50 % do peso do fruto). Este é contudo um resíduo com características interessantes uma vez que é renovável, biodegradável, apresentando-se como um material quimicamente inerte, não tóxico e com elevada resistência mecânica. E estas características têm-lhe conferido uma ampla gama de aplicação, que vai desde a indústria cosmética à indústria petrolífera. Uma das suas principais utilizações é como agente de polimento/limpeza de diversos materiais, mas encontra ainda uma importante aplicação, como meio filtrante, na remoção de hidrocarbonetos (óleos) de águas residuais da indústria de extração petrolífera e de refinação [260,261]. Para lá destas utilizações comerciais, já bem estabelecidas, outras aplicações, no âmbito da descontaminação de efluentes líquidos, têm vindo a ser exploradas. Alguns dos estudos publicados abordam a utilização de resíduos de casca de noz “tal qual”, isto é sem qualquer alteração específica (por tratamento físico ou químico) do material, na remoção, em particular, de metais pesados [262,263]. Um outro aspeto, também objeto de avaliação, é o que se prende com potencial de aplicação/utilização deste resíduo como material precursor na produção de carvão ativado, justificado com base na sua natureza lignocelulósica, assim como na boa resistência mecânica e baixo teor de cinzas do material [231-235,264].

### 2.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CASCA DE NOZ

A estrutura da casca de noz assenta fundamentalmente em três polímeros: celulose, hemicelulose e lignina [89,265,266]. Estes biopolímeros constituem os chamados componentes fundamentais.

Para além destes constituintes estruturais, há ainda os designados componentes extrativos, que podem ter natureza orgânica (taninos, flavonóides, ácidos gordos, etc.) ou inorgânica (cinzas) [89,265,266].

A celulose é um polímero constituído por um só monómero (cuja unidade estrutural é a glicose -  $C_6H_{10}O_5$ ). Possui uma estrutura linear ou fibrosa, na qual se estabelecem múltiplas pontes de hidrogénio entre os grupos hidroxilo das distintas cadeias justapostas de glicose, fazendo-as impenetráveis a água e, portanto, insolúveis, originando fibras compactas que constituem a parede celular. As moléculas de celulose alinhadas dão origem às microfibrilas que, por sua vez, levam à formação das macrofibrilas, as quais se ordenam para formar a parede celular. A hemicelulose é um heteropolissacarídeo resultante da combinação de, principalmente, polímeros de pentoses e hexoses (com fórmulas moleculares  $C_5H_8O_4$  e  $C_6H_{10}O_5$ ) que podem ser lineares ou ramificados. As hemiceluloses participam com a celulose na construção da parede celular, encontrando-se intercaladas às microfibrilas de celulose conferindo elasticidade e impedindo o seu contacto [267]. A lignina é incorporada como último componente da parede celular durante o processo de formação celular. Este polímero confere à parede celular maior rigidez, resistência mecânica e proteção microbiológica. É, dos três constituintes, o mais complexo no que diz respeito à estrutura e heterogeneidade. A lignina é formada pela polimerização dos álcoois aromáticos cumarílico, coniferílico e sinapílico. Estes álcoois são os precursores primários das unidades conhecidas como *p*-hidroxifenil, guaiacil e siringil [267,268].

A composição química de qualquer material lignocelulósico pode ser analisada com base nos seus principais constituintes e/ou considerando a sua análise elementar. Os valores encontrados na literatura relativos à composição da casca de noz apresentam diferenças significativas no que se refere aos três polímeros estruturais. O teor de celulose varia entre 23,0 e 35,5 %, para a hemicelulose, são indicados valores de 22,0 e 17,2 % e a lignina apresenta valores compreendidos entre 32,7 e 52,3 % [89,235,269]. Estes resultados estão condicionados pela expectável variabilidade devida às condições ambientais, durante as quais ocorre a formação da casca, bem como pela metodologia de extração usada. A segunda forma de considerar a composição química, relativa à análise elementar, regista diferenças bem menores [266,269,270]. Os resultados obtidos na avaliação da composição elementar da casca de noz usada neste trabalho (determinada em base seca e sem cinzas e em duplicado) constam da Tabela 16.

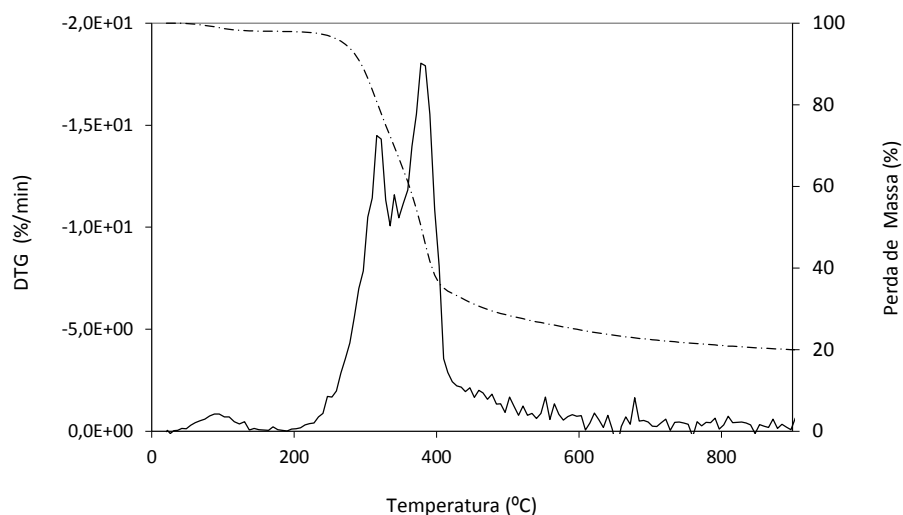
O teor de cinzas, de voláteis e de carbono fixo foram também estimados através da análise termogravimétrica da casca de noz. Os ensaios de termogravimetria permitem avaliar o comportamento dos materiais durante o aquecimento de amostras quer em atmosfera inerte e/ou atmosfera oxidante. O teor de voláteis é avaliado por aquecimento em atmosfera inerte, enquanto na presença de oxigénio, ocorre a combustão da fração de carbono fixo, obtendo-se como resíduo final a fração correspondente às cinzas. A casca de noz analisada apresentou um teor de voláteis elevado (91,17 %), uma percentagem de carbono fixo de 7,01 e de 0,30 para as cinzas (valores em base seca).

**Tabela 16** Análise elementar de casca de noz (base seca e sem cinzas).

	% C	% H	% O	% N	Referências
Casca de noz (Analisada)	49,49±0,62	5,85±0,05	44,28±0,58	0,08±0,01	-
Casca de noz	47,67	5,67	46,32	0,34	[270]
Casca de noz	47,63	6,04	45,33	-	[273]
Casca de noz	51,37	5,76	42,87		
Celulose	44,4	6,2	49,4		
Hemicelulose	45,5	6,1	48,4	-	[266]
Lignina	57,25	5,43	37,32		

As quantidades relativas de celulose, hemicelulose, lignina, inorgânicos e extratáveis, influenciam o comportamento dos materiais durante a decomposição térmica. Na pirólise de materiais lignocelulósicos, a lignina é a principal responsável pela produção de coque, pelo que, materiais com maior teor de lignina apresentam maiores percentagens de carbono fixo [272]. Na produção de um carvão ativado é desejável que o precursor possua um teor de carbono fixo elevado e baixo teor de cinzas [273]. Apesar da análise imediata da casca de noz indicar um elevado teor de voláteis (estimados a 950 °C) e consequentemente um menor teor de carbono fixo, o rendimento de produção de carvão ativado está também dependente das condições de ativação (método de ativação selecionado e extensão da ativação). Em contrapartida, o baixo teor de cinzas determinado para a casca de noz em estudo é uma das características mais favoráveis em concordância com que a literatura reporta para este material [89,234,270].

Na Figura 11, está representado o termograma obtido (em atmosfera inerte) para a casca de noz. Os termogramas de materiais de natureza lignocelulósica caracterizam-se pelo aparecimento de, normalmente, dois picos, o primeiro devido à hemicelulose (decomposição a temperaturas mais baixas a partir de ~150 até aos 350 °C) e o segundo à celulose (para temperaturas de ~350 a 500 °C).



**Figura 11** Análise termogravimétrica, em atmosfera inerte, para a casca de noz.

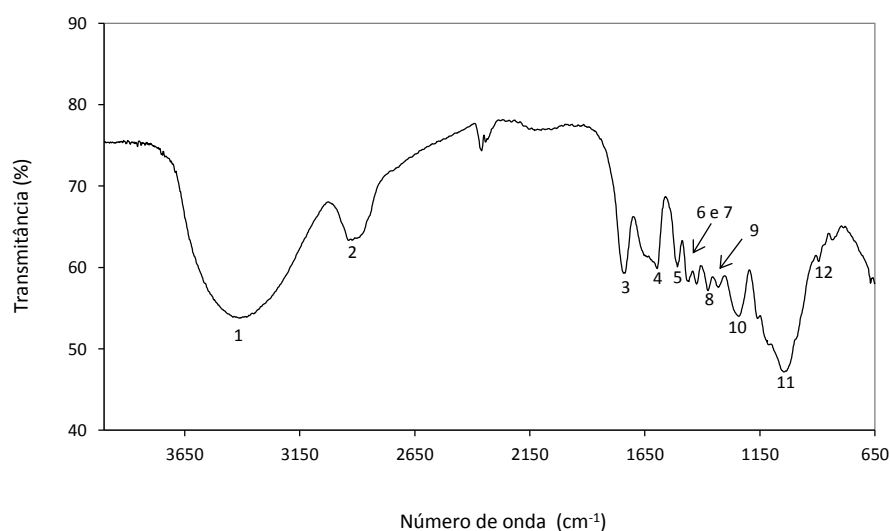
O intervalo de temperatura de decomposição destes dois polissacarídeos é estreito, podendo em alguns casos sobrepor-se e evidenciando apenas um pico mais largo. Por vezes, são observados três picos e nestes casos os dois picos que ocorrem a menores temperaturas são associados à hemicelulose e o terceiro à decomposição da celulose. A lignina é considerada o mais estável dos componentes da biomassa, começando a decompor-se a temperaturas baixas (próximas da temperatura de decomposição da hemicelulose) mas o seu intervalo de decomposição estende-se para temperaturas mais elevadas (até aos 900 °C), o que se traduz normalmente no aparecimento de uma cauda no termograma, e a uma velocidade significativamente menor. A decomposição da holocelulose (celulose mais hemicelulose) sobrepõe-se à decomposição da lignina não sendo possível associar, nos termogramas, nenhum pico à decomposição da lignina quando estão também presentes os outros dois componentes estruturais. Desta forma, a perda de peso que ocorre a temperaturas inferiores a 400 °C é atribuída à degradação térmica de hemicelulose e celulose (com uma contribuição devida a degradação da lignina), enquanto as perdas observadas para temperaturas superiores a 400 °C são atribuídas principalmente à lignina [272-278].

No caso específico da casca de noz, as transformações térmicas ocorrem numa gama relativamente estreita de temperatura. É possível definir três zonas de pirólise para a amostra noz, com máximos observados a 316, 335 e 378 °C, que se sobrepõem ao longo de uma gama de temperaturas de aproximadamente 200 a 400 °C. As primeiras etapas de perda de peso estão associadas com a decomposição das frações mais leves, tais como extrativos e hemicelulose e a terceira com a decomposição da celulose. A decomposição da lignina, tal como foi referido, ocorre ao longo de um intervalo amplo de temperaturas em sobreposição aos processos de decomposição de hemicelulose e celulose. O resíduo carbonáceo final, obtido a 900 °C, corresponde a ~22 % da massa inicial de amostra de casca de noz. A perda de massa ocorre de forma mais significativa entre ~250 °C até aos 400 °C, restando ~38 % da amostra original quando se atingem os 400 °C. A 500 °C a massa de resíduo corresponde a 30 % da massa inicial de casca de noz e irá diminuir progressivamente até atingir os 22 % a 900 °C, registando a 700 °C já apenas 24 % da amostra inicial. Esta perda de massa corresponde, como já foi

discutido, aos últimos estágios de decomposição da lignina, sendo este polímero o principal responsável pelo teor de resíduo carbonáceo final.

Para uma análise mais pormenorizada da química da superfície da casca de noz, recorreu-se à espectroscopia de infravermelho (FTIR) e de fotoeletrões de Raios-X (XPS, *X-Ray Photoelectron Spectroscopy*). Estas são técnicas complementares que permitem compreender a natureza dos grupos químicos superficiais. FTIR fornece informações principalmente qualitativas enquanto XPS é particularmente útil para estimar a quantidade relativa de ligações carbono-carbono e carbono-oxigénio à superfície dos materiais. Estas duas técnicas de análise encontram grande aplicação no estudo da química de superfície de diversos materiais de natureza lignocelulósica e por esta razão a interpretação dos respetivos espectros está mais facilitada e sujeita a menor ambiguidade.

Dada a natureza heterogénea dos materiais lignocelulósicos, os espectros de absorção de infravermelho podem ser muito complexos, incidindo a sua análise, por esta razão, sobretudo na identificação de bandas características destes materiais [279-283]. O espectro no infravermelho da casca de noz é apresentado na Figura 12, com as principais bandas de interesse identificadas.



**Figura 12** Espectro de infravermelho da casca de noz.

A banda 1, larga e forte em torno de  $3400\text{ cm}^{-1}$ , identifica o grupo O-H (grupo não livre mas ligado por pontes de hidrogénio intra e/ou intermoleculares). Este grupo está muito presente na celulose, hemicelulose e em menor número na lignina (aqui com carácter fenólico), sendo por este motivo um dos mais dominantes do grupo de frequências de absorção do espectro de IV. A banda 2, observada por volta dos  $2900\text{ cm}^{-1}$ , é atribuída à distensão das vibrações das ligações C-H, saturadas, insaturadas ou aromáticas, presentes nos três polímeros estruturais da casca de noz.

A banda 3, localizada na região dos  $1740\text{ cm}^{-1}$ , é atribuída ao alongamento da ligação C=O (grupo carbonilo) dos grupos urónicos da hemicelulose e/ou de ligações éster que se estabelecem entre hemicelulose e a lignina. A presença desta banda não é por si só suficiente para identificar um grupo funcional específico, uma vez que há sobreposição das bandas dos diferentes grupos carbonilo ( $1725\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$  ácidos carboxílicos,  $1725\text{-}1705\text{ cm}^{-1}$  cetona,  $1740\text{-}1725\text{ cm}^{-1}$  aldeído,  $1750\text{-}1725\text{ cm}^{-1}$  éster). Há que recorrer a outras zonas do espetro, no caso dos ésteres à vibração C-O que surge  $1243\text{ cm}^{-1}$  (banda 10, ressalvando-se contudo o facto de poder ocorrer nesta região sobreposição de bandas, nomeadamente C-O dos fenóis, álcoois e ácidos carboxílicos). Esta é, em todo o caso, considerada uma banda característica da hemicelulose [279-283].

Já as bandas 4 e 5, que ocorrem a  $1597$  e  $1508\text{ cm}^{-1}$ , respetivamente, são específicas da lignina. Sendo a banda de menor frequência uma banda pura associada à vibração C=C dos anéis aromáticos enquanto a banda observada a  $1597\text{ cm}^{-1}$  é devida à vibração do anel e também à vibração C=O [279,280,282]. Nesta região, poderá estar incluída a frequência de vibração de deformação H-O-H devida à humidade absorvida pela celulose ( $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$ ). Mas a sua contribuição poderá ser pequena tendo em conta que as amostras foram secas e estiveram guardadas em exsiccador.

A interpretação do espetro para frequências inferiores a  $\sim 1450\text{ cm}^{-1}$  é mais complexa. As bandas observadas resultam da contribuição de vários modos de vibração dos grupos funcionais dos três polímeros [276,278]. As frequências observadas a  $1459$  (banda 6),  $1426$  (banda 7) e  $1376\text{ cm}^{-1}$  (banda 8) estão associadas à vibração de flexão C-H e ocorrem para os três componentes estruturais da casca de noz [275-277]. A identificação da banda 9 ( $1330\text{ cm}^{-1}$ ) é mais ambígua uma vez que poderá ser associada à deformação C-H ou C-O [279,281].

As bandas 10 ( $1243\text{ cm}^{-1}$ ) e 11 ( $1046\text{ cm}^{-1}$ ) são atribuídas à distensão C-O, não sendo possível associá-las a um componente estrutural particular [279,281]. Em ambos os casos, é provável que ocorra sobreposição, não havendo dúvidas quanto à banda a  $1046\text{ cm}^{-1}$ , onde é visível a contribuição de outras frequências. É ainda observável no espetro uma banda muito fraca a  $895\text{ cm}^{-1}$  (banda 12) atribuída à deformação  $C_1\text{-H}$  (vibração do carbono anomérico) específica dos polissacarídeos celulose e hemicelulose [280,281,283].

A análise da superfície da casca de noz por XPS permite obter informação mais circunstanciada sobre as ligações químicas e respetivos grupos funcionais. A técnica de XPS é mais sensível do que FTIR, permitindo identificar a composição atómica e estimar a sua proporção relativa e, simultaneamente, por desconvolução do espetro de um dado elemento, obter informação sobre as ligações químicas que estabelece [284,287].

Os espetros foram adquiridos no modo de baixa resolução (modo *survey*) e de elevada resolução. O espetro obtido em modo *survey* confirmou a presença dos elementos carbono, oxigénio e azoto à superfície da casca de noz (o elemento hidrogénio não é detetável por XPS) e permitiu estimar a razão O/C, que para a casca de noz assume o valor de 0,48. Este parâmetro é indicativo da presença à superfície da casca de noz de dois componentes em particular: os extratáveis e lignina [284,287]. A celulose é dos três componentes estruturais o que maior razão O/C apresenta e a lignina o menor. A razão O/C para a celulose pura é de 0,83 e 0,80 para a



hemicelulose, sendo de  $0,33^1$  para a lignina [284,285,287]. O valor obtido está claramente mais próximo da razão O/C da lignina e coincide ainda com a razão O/C que pode ser calculada para a lignina, isolada a partir da casca de noz (composição elementar apresentada na Tabela 16), e que assume o valor de 0,49.

Um dos espectros de maior interesse é o do átomo de carbono (C1s) para o qual é consensual considerar a existência de quatro classes de ligação denominadas C1, C2, C3 e C4. A desconvolução do espectro de elevada resolução, obtido para este elemento, está representada na Figura 13 e na Tabela 17 estão as percentagens obtidas para as quatro classes de ligação [284-287].

**Tabela 17** Análise da composição à superfície da casca de noz obtida por XPS e valor de  $pH_{pcz}$ .

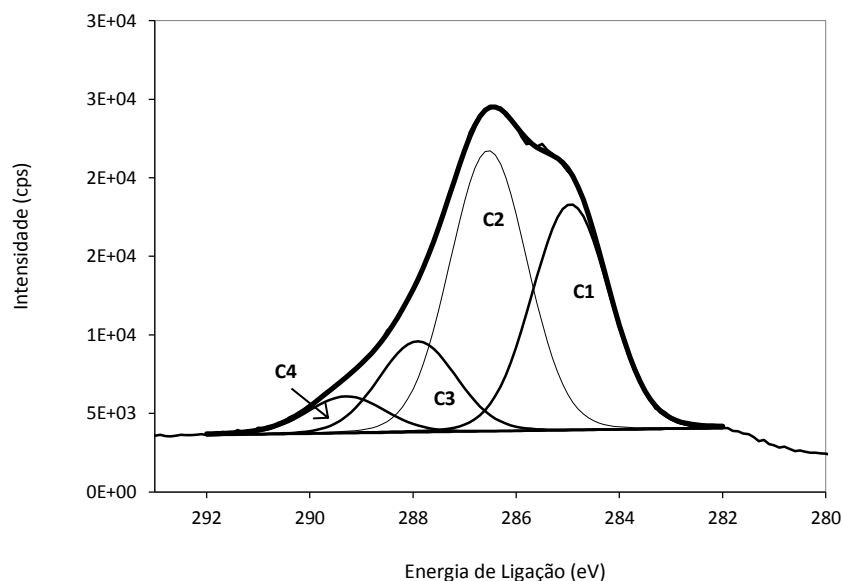
$pH_{pcz}$	O/C	Classes de ligação C1s (%)			
		C1	C2	C3	C4
		(C-C/C-H)	(C-OH/C-O-C)	(C=O/O-C-O)	(COOH/COOR)
4,4±0,1	0,48	35,6	44,3	14,3	5,8

Carbono C1 - Carbono ligado a um átomo de carbono ou hidrogénio (energia de ligação 285,0 eV)  
Carbono C2 - Carbono ligado a átomos de oxigénio não carbonilo (energia de ligação 286,5 eV)  
Carbono C3 - Carbono do grupo carbonilo ou ligado a dois átomos de oxigénio não carbonilo (energia de ligação 287,9 eV)  
Carbono C4 - Carbono do grupo carboxilo ou éster (energia de ligação 289,2 eV)

As ligações do tipo C2 (ligações C-OH e C-O-C) e C1 (ligações C-C e C-H) são predominantes à superfície da casca de noz. Este é um resultado expectável, uma vez que estas são ligações características dos três componentes estruturais. As ligações C1 correspondem à fração de carbono aromática e/ou alifática e é devida à lignina, enquanto para a ligação C2 contribuem maioritariamente os polissacarídeos celulose e hemicelulose [284,286].

Já as ligações da classe C3 (ligações C=O e O-C-O) são consideradas praticamente ausentes na lignina enquanto as C4 (ligações COOH e COOR) estão ausentes na celulose [286,287]. Para estas duas classes de ligação contribui ainda a fração dos extratáveis, mas de forma menos expressiva quando comparada com os componentes estruturais, uma vez que são constituintes minoritários. Para a casca de noz, há indicação de poderem assumir valores em torno de 3 % (m/m) [266].

<sup>1</sup> A lignina é dos três constituintes estruturais, dos materiais lignocelulósicos, o mais complexo no que concerne à estrutura e heterogeneidade. Nas estruturas de diversos materiais lignocelulósicos são identificadas diferentes ligninas. Os valores reportados para a razão O/C da lignina variam entre 0,25 e 0,39 [287].



**Figura 13** Desconvolução do pico C1s do espectro de XPS da casca de noz.

A análise do espectro do elemento oxigénio permite obter informação ainda mais detalhada sobre as ligações que estabelece com o átomo de carbono. Na desconvolução do pico O1s são consideradas quatro classes de ligação O1 (ligação C=O, energia de ligação 531,1 eV), O2 (ligação O-C-O ou O=C-O-R; energia de ligação 532,6 eV), O3 (ligação C-OH, energia de ligação de 533,0 eV) e O4 (ligação COOH, energia de ligação 534,2 eV) [287,284,286,288]. Não foi contudo possível obter resultados consistentes ao proceder à desconvolução do pico O1s. A dificuldade em analisar o espectro do oxigénio tem sido relatada na literatura [287,289,290]. A principal limitação reside na resolução dos espectrómetros que pode ser insuficiente para resolver pequenos deslocamentos como os que se verificam entre as classes de ligação O2 e O3 (diferença em torno de 0,4 eV) [290].

A presença de diversos grupos funcionais superficiais vai influenciar o desenvolvimento de cargas na superfície da casca de noz, quando em contacto com soluções aquosas, consequência da ionização desses grupos funcionais. Esta carga superficial depende do valor de pH do meio e pode ser avaliada por determinação do pH no ponto de carga zero ( $\text{pH}_{\text{pcz}}$  - valor de pH para o qual a carga global superficial é nula). O valor estimado para a casca de noz utilizada neste estudo foi de  $4,4 \pm 0,1$  (valor médio obtido para dois ensaios). Este parâmetro revela uma superfície ácida onde predominam as cargas negativas ( $\text{pH}_{\text{meio}} > \text{pH}_{\text{pcz}}$ ). Dependendo do pH do meio, a superfície irá adquirir carga positiva ou negativa e consequentemente a afinidade para os solutos será maior ou menor dependendo das forças de atração ou repulsão que se estabelecem.

Da análise efetuada à superfície da casca de noz, destaca-se a presença de grupos hidroxilo, carbonilo e carboxílico. O grupo funcional hidroxilo está presente na estrutura dos três polímeros estruturais mas são os polissacarídeos celulose e hemicelulose os principais responsáveis pelo seu teor. Contudo, é reconhecido que nos polissacarídeos, uma parte significativa destes grupos está envolvida em ligações, por pontes de hidrogénio, intra e intermoleculares, como é corroborado pelo espectro de FTIR [267,280,289].

Os dados obtidos sugerem que o grupo carbonilo será, depois do grupo hidroxilo, o segundo mais abundante à superfície da casca de noz. Estes grupos funcionais ocorrem maioritariamente nas cadeias ramificadas da hemicelulose e em menor expressão na lignina [280,281]. A função ácido carboxílico afigura-se como a terceira mais expressiva à superfície da casca de noz mas é, muito provavelmente, aquela que determina o carácter ácido da superfície da casca de noz tendo em conta o valor do  $pH_{pcz}$  de  $4,4 \pm 0,1$  (ácidos carboxílicos  $pK_a \sim 4$  e 5; grupos hidroxilo (fenólicos)  $pK_a \sim 10$ , grupos hidroxilos (álcoois)  $pK_a \sim 16$ ). O valor obtido, por XPS, para razão O/C é revelador da presença à superfície da lignina e de compostos orgânicos extratáveis. Estes componentes conferem à superfície maior aromaticidade e este é um parâmetro importante quando se considera a remoção de compostos de orgânicos aromáticos.

## 2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DA CASCA DE NOZ

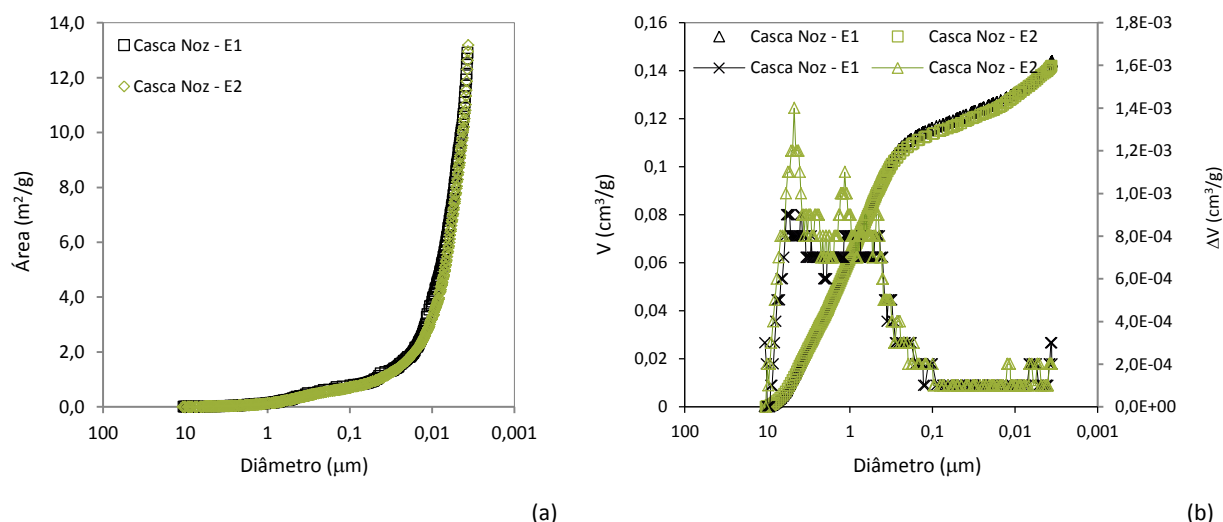
As propriedades físicas da superfície da casca de noz foram avaliadas por porosimetria de mercúrio (área superficial, distribuição de poros, porosidade e massa específica aparente) e picnometria de hélio (massa específica real). Os resultados estão reunidos na Tabela 18, e as curvas de intrusão de mercúrio são apresentadas na Figura 14.

**Tabela 18** Características texturais da casca de noz.

$\text{Área}_{Hg}$ ( $m^2/g$ )	$V_{macroporos}$ ( $cm^3/g$ )	$V_{mesoporos}$ ( $cm^3/g$ )	$\rho_{real}$ ( $g/cm^3$ )	$\rho_{aparente}$ ( $g/cm^3$ )	$\epsilon_{Total}$ (%)	$\epsilon_{Teórica}$ (%)
$13,1 \pm 0,1$	$0,103 \pm 0,001$	$0,024 \pm 0,002$	1,50	$1,2 \pm 0,1$	$17,2 \pm 0,3$	$17,8 \pm 0,2$

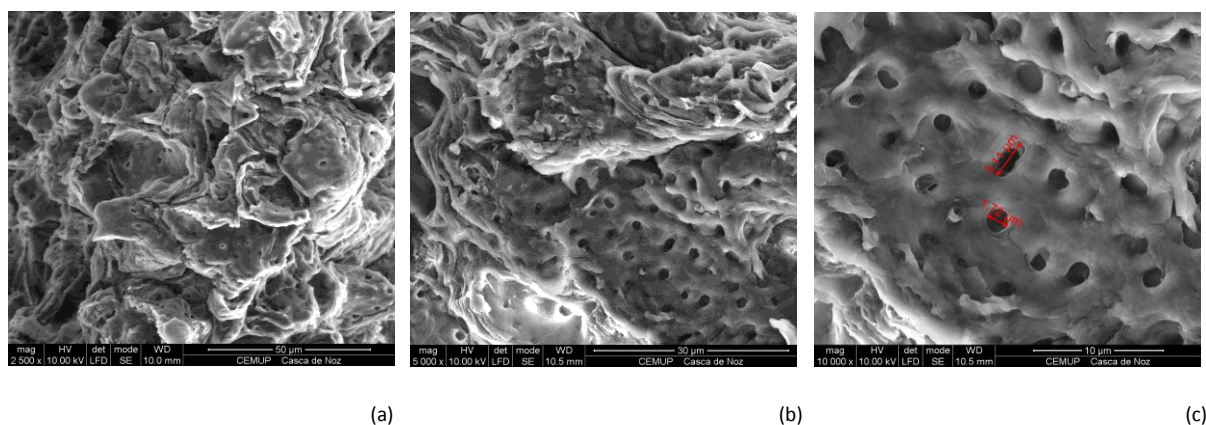
$V_{macroporos}$  - Volume de poros com diâmetro entre 10,4 - 0,05  $\mu m$  (estimado por porosimetria de mercúrio para duas réplicas)  
 $V_{mesoporos}$  - Volume de poros com diâmetro entre 0,05 - 0,00357  $\mu m$  (estimado por porosimetria de mercúrio para duas réplicas)  
 $\rho_{real}$  - Massa específica real (estimada por picnometria de hélio)  
 $\rho_{aparente}$  - Massa específica aparente (estimada por porosimetria de mercúrio para duas réplicas)  
 $\epsilon_{Total}$  - Porosidade total (estimada por porosimetria de mercúrio para duas réplicas)  
 $\epsilon_{Teórica}$  - Porosidade calculada com base nas massas específica aparente e real

A concordância entre os valores obtidos para a porosidade total (porosidade intraparticular) e a porosidade teórica (calculada com base nos valores obtidos para a massa específica real e aparente) sugere que a fração de poros não quantificada será muito reduzida (provável ausência de microporos).



**Figura 14** Curvas de área cumulativa (a) e de intrusão de mercúrio cumulativa e incremental (b).

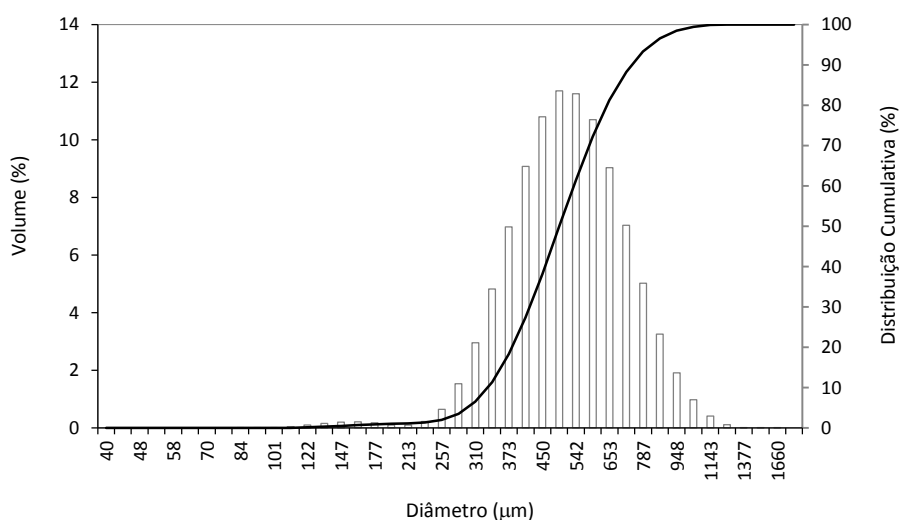
Os resultados revelam uma estrutura dominada por macroporos e mesoporos. Mais de 80 % do volume intrudido ocorre na gama de macroporos, contudo, a contribuição da macroporosidade para a área é de aproximadamente 7 %. O maior número de poros corresponde a mesoporos, observando-se um incremento substancial da área acumulada para poros a partir de 0,02  $\mu\text{m}$  (20 nm). O material apresenta uma distribuição de poros alargada não sendo possível especificar um diâmetro médio de poro. Nas imagens da superfície da casca de noz (Figura 15), obtidas por microscopia de varrimento eletrônica, a macroporosidade do material é notória. A superfície apresenta uma morfologia bastante irregular e heterogênea.



**Figura 15** Imagens da superfície da casca de noz obtidas por microscopia eletrônica de varrimento.

A distribuição granulométrica, determinada por espectrometria de difração de raios laser, foi o último parâmetro avaliado. Os resultados obtidos, como média de dois ensaios, encontram-se representados na Figura 16. O valor médio obtido para o diâmetro esférico equivalente foi de 568  $\mu\text{m}$  (valor da moda da distribuição de 517  $\mu\text{m}$ ). A percentagem de partículas abaixo do limite inferior da gama de tamanhos previstos pela peneiração (250-500  $\mu\text{m}$ ; fração usada nos ensaios de sorção) foi de apenas de 2 %, existindo, no entanto, uma parte muito significativa de partículas (valor da mediana da distribuição em 543  $\mu\text{m}$ ) acima do limite

superior da gama de peneiração. De acordo com a análise granulométrica efetuada, 90 % das partículas apresentam um diâmetro superior a 364  $\mu\text{m}$  e aproximadamente 10 % encontram-se acima dos 787  $\mu\text{m}$ .



**Figura 16** Distribuição granulométrica para a casca de noz (fração 250-500  $\mu\text{m}$ ).

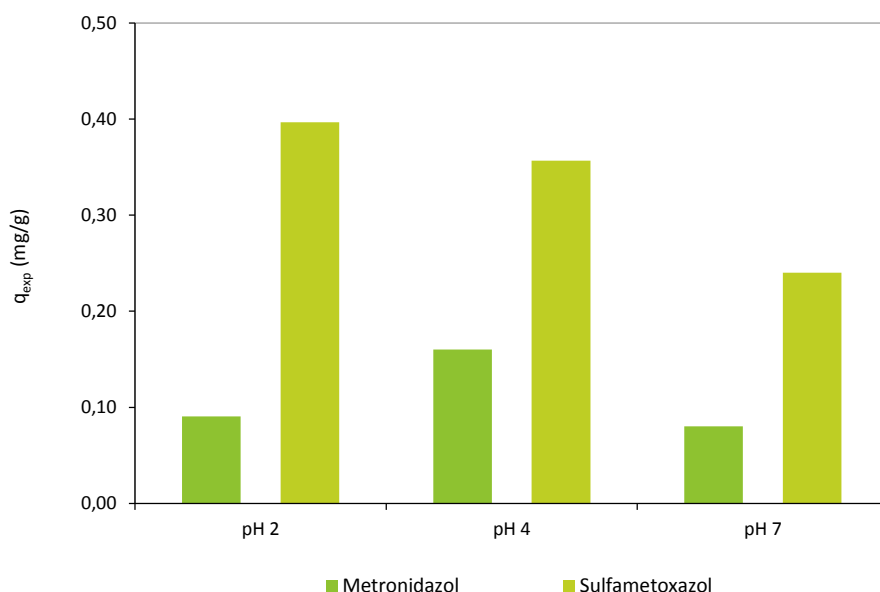
### 2.3 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DA CASCA DE NOZ NA REMOÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS EM ESTUDO

Uma enorme gama de resíduos, provenientes de atividades agrícolas e industriais, tem sido investigada como alternativa ao carvão ativado [291,292]. A mais-valia deste tipo de materiais reside na sua abundância e baixo-custo. Sendo, seguramente, opções menos dispendiosas, a sua utilização está contudo condicionada pela capacidade de sorção que apresentam. Esta é, de um modo geral, quer pelas características texturais e/ou químicas que possuem, inferior à que é disponibilizada pelos carvões ativados comercializados. Com vista a incrementar o seu desempenho, ou compreender as possíveis interações sorvente/sorbato, é frequente proceder-se a alterações às características da química de superfície dos materiais [228,293-295].

No âmbito deste trabalho, testaram-se dois procedimentos comuns em materiais de natureza lignocelulósica: tratamento ácido e alcalino. Estes são procedimentos que alteram a fração não-celulósica dos materiais: hemicelulose, lignina e extrativos [228-230,296].

O primeiro conjunto de estudos realizados permitiu avaliar a capacidade de remoção de antibióticos com casca de noz, sem qualquer modificação. As condições dos ensaios de sorção foram fixadas para uma temperatura de 20 °C, concentração de antibiótico de 5 mg/L e relação *massa de soluto:massa de casca de noz* constante (0,5 mg/g). Procurou-se, simultaneamente, avaliar o efeito do pH na remoção dos antibióticos. Este é um dos parâmetros com maior influência no processo uma vez que não só condiciona a química superficial do sorvente mas também a especiação do antibiótico em solução (Figura 5).

Selecionaram-se, inicialmente, três valores de pH que permitissem estudar o processo de sorção das espécies iônicas e moleculares dos dois antibióticos. Os resultados deste estudo estão representados na Figura 17.



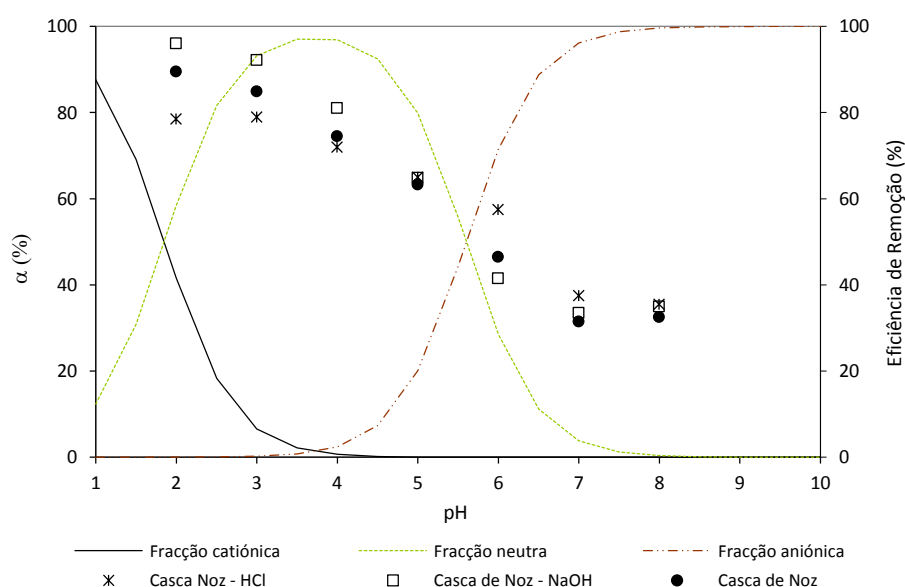
**Figura 17** Capacidade de sorção para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol a pH 2, 4 e 7.

A eficiência de remoção registra diferenças significativas. O antibiótico Sulfametoxazol apresenta valores entre 4 a 2 vezes superiores aos observados para a capacidade de sorção de Metronidazol em toda a gama de pH avaliada. As diferenças de propriedades entre as espécies neutras e ionizadas são fundamentais para controlar o processo verificando-se, em particular para o Metronidazol, maior afinidade entre as moléculas de antibiótico não-ionizadas e a superfície da casca de noz. A pH 4 as espécies neutras dominam em solução, correspondendo a aproximadamente 96 e 97 % para o Metronidazol e o Sulfametoxazol, respetivamente. As formas não ionizadas apresentam maior hidrofobicidade (ou menor solubilidade) o que determina a sua distribuição entre a fase sólida e aquosa. Estas são simultaneamente condições de pH que minimizam a influência das interações eletrostáticas no processo ( $pH_{pcz} = 4,4$ ). A superfície da casca de noz apresentará uma carga global ligeiramente positiva, cenário bem diferente do que se verifica a pH 2 e 7, para o qual a carga global à superfície será maioritariamente positiva ( $pH < pH_{pcz}$ ) ou negativa ( $pH > pH_{pcz}$ ).

Nos ensaios realizados a pH 2 o antibiótico Metronidazol encontra-se predominantemente na forma catiónica (~80 %) e as repulsões eletrostáticas que se estabelecem entre uma superfície globalmente positiva e o catião justificam, muito provavelmente, a menor eficiência de remoção. Para Sulfametoxazol verifica-se contrariamente um melhor desempenho a pH 2. Sendo certo que a maior capacidade de sorção, para o Sulfametoxazol, ocorre a pH 2, a diferença observada para os ensaios a pH 4 é pequena (~10 %). Em todo o caso a presença em solução da espécie catiónica, que representa ~41 % da fração total (com a forma neutra a assumir ~59 %), não conduziu a uma diminuição da sorção. A influência das interações eletrostáticas é já notória nos ensaios realizados a pH 7. Nestas condições a forma aniónica de Sulfametoxazol predomina em

solução (~96 %) e as repulsões eletrostáticas, que se estabelecem com uma superfície carregada negativamente, contribuem para uma diminuição na capacidade de sorção. Em contrapartida, para o Metronidazol, somente a forma neutra se encontra em solução a pH 7 e a diferença para os ensaios realizados a pH 4 é pequena.

Os resultados obtidos realçam a dependência da eficiência da remoção do valor de pH do meio. À medida que o pH aumenta, a superfície da casca de noz vai adquirindo uma carga global progressivamente mais negativa; se simultaneamente for também aumentando a % da espécie aniônica em solução, como no caso de Sulfametoxazol, o desempenho do sorvente irá diminuir. Uma superfície com características menos ácidas (com menor carga superficial negativa) será desejável para maximizar a remoção de espécies aniônicas. As modificações introduzidas, após os tratamentos, não se traduziram em alterações significativas na eficiência de remoção, como se pode observar nos resultados obtidos para o antibiótico Sulfametoxazol (Figura 18).



**Figura 18** Especiação e eficiência de remoção de Sulfametoxazol em função do pH.

As características texturais e químicas das amostras de casca de noz foram analisadas para avaliação das alterações induzidas pelos tratamentos a que foram submetidas. Os resultados estão reunidos no Anexo B. A alteração mais expressiva ocorreu para a amostra submetida ao tratamento alcalino. Ambas as amostras apresentaram um aumento da razão O/C (avaliada por XPS), diminuição de grupos carboxílicos/éster (classe de ligações C4) e menor peso relativo da fração aromática/alifática (classe de ligações C1). Os resultados obtidos são indicativos de uma maior exposição de espécies oxigenadas devidas essencialmente ao teor de holocelulose dos materiais (classe de ligações C2) [284-287]. O tratamento alcalino conduziu a uma superfície com características menos ácidas ( $\text{pH}_{\text{pcz}} = 5,3$ ), em contraste com o observado para o tratamento em meio ácido ( $\text{pH}_{\text{pcz}} = 3,5$ ). Contudo, em ambas as circunstâncias, com ou sem modificação, o desempenho da casca noz apresenta uma dependência significativa e similar com o valor do pH. As melhores condições ocorrem para valores de  $\text{pH} \leq 4$ , que são pouco prováveis em efluentes reais. Simultaneamente, a reduzida capacidade de

torção da casca de noz limita consideravelmente a sua aplicabilidade. Modificações mais expressivas, quer na estrutura quer na química dos materiais, podem ser induzidas através de condições de reação mais fortes [229]. Para melhor compreensão da extensão e do efeito das alterações induzidas pelos tratamentos, seria necessário avaliar a influência de parâmetros tais como temperatura, tempo e concentração dos reagentes químicos. Estas alterações não foram contudo consideradas, uma vez que se pretendeu preparar carvões ativados, tendo como precursor os resíduos de casca de noz. A descrição destes estudos e os seus resultados são abordados na secção seguinte.



### 3 CARVÃO ATIVADO PRODUZIDO

A enorme aplicabilidade do carvão ativado, na remoção de poluentes, radica numa versatilidade que é considerada única e que depende do processo e condições empregues e da matéria-prima (precursor) a partir do qual é produzido [148]. A par da elevada versatilidade, estes adsorventes distinguem-se ainda por apresentarem elevadas capacidades de adsorção [148,150]. Para a extensão da remoção concorrem três fatores principais: (i) a natureza do adsorvente, (ii) a natureza do adsorvato, (iii) e as condições do processo/de operação (temperatura, pH, força iónica, etc.) [150]. Nesta secção, procurou-se avaliar, com algum detalhe, a influência das condições de preparação do adsorvente na remoção dos dois antibióticos em estudo.

#### 3.1 PRODUÇÃO DE CARVÃO ATIVADO

Na produção de carvão ativado destacam-se duas etapas: a carbonização e a ativação. A carbonização consiste no tratamento térmico do precursor, em atmosfera inerte, a temperaturas normalmente inferiores a 800 °C [197]. Nesta etapa, os componentes voláteis do precursor são removidos, obtendo-se um material homogéneo com elevado teor de carbono e uma baixa porosidade [148,197,297]. Sendo que uma das características mais relevantes de um carvão ativado, e que controla a sua aplicabilidade, reside na estrutura porosa, é necessário proceder a uma fase de ativação por forma a produzir uma matriz porosa bem desenvolvida e acessível. Nesta etapa, por ação do agente de ativação, irá ocorrer a formação de poros de maiores dimensões (por alargamento da porosidade já existentes) e/ou a formação de novos poros [148,149].

Substâncias químicas como o ácido fosfórico, cloreto de zinco, ácido sulfúrico, hidróxido de sódio e de potássio constituem agentes ativantes clássicos com enorme aplicação [197,232,234,235,264,298]. Razões ambientais e/ou de segurança (menor corrosividade) têm justificado, nos anos mais recentes, a aplicação, com sucesso, de carbonato de potássio como agente ativante [231,236,299].

A avaliação do potencial de sorção de carvão ativado preparado a partir de resíduos de natureza lignocelulósica, e em particular de resíduos de casca de noz, por ativação química tem sido objeto de alguns estudos, que constituíram a base para a definição de condições de operação na preparação dos materiais [231-236]. Três fatores assumem particular importância nas características estruturais/texturais desejadas para os materiais (elevadas áreas e uma rede porosa bem desenvolvida): temperatura de ativação, razão de impregnação e tempo de ativação. A seleção das condições de operação para estas variáveis assenta, fundamentalmente, no conhecimento empírico acumulado e depende do material precursor, do agente de ativação e ainda das características desejadas para o produto final [231,233,300,301].

### 3.2 ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE ATIVAÇÃO

Selecionaram-se as variáveis razão de impregnação e temperatura de ativação para avaliação da influência que exercem na produção de carvão ativado, tendo por precursor um resíduo, a casca de noz, visando estabelecer condições de preparação que permitem maximizar a remoção dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol. As restantes condições de operação foram fixadas (de acordo com o descrito na secção 3.2.1 do capítulo II), quer com base na informação disponível na literatura, quer através da realização de alguns ensaios preliminares. Definiu-se para a razão de impregnação uma variação entre 1:1 e 1:2 (massa de precursor:massa de  $K_2CO_3$ ) e para um intervalo temperaturas compreendido entre 700 a 900 °C. Os ensaios foram planeados de acordo com uma metodologia fatorial do tipo  $2^2$  (dois fatores a dois níveis, com ponto central), cujas condições estão descritas na Tabela 19.

**Tabela 19** Valores reais e codificados, adotados para os fatores temperatura e razão de impregnação.

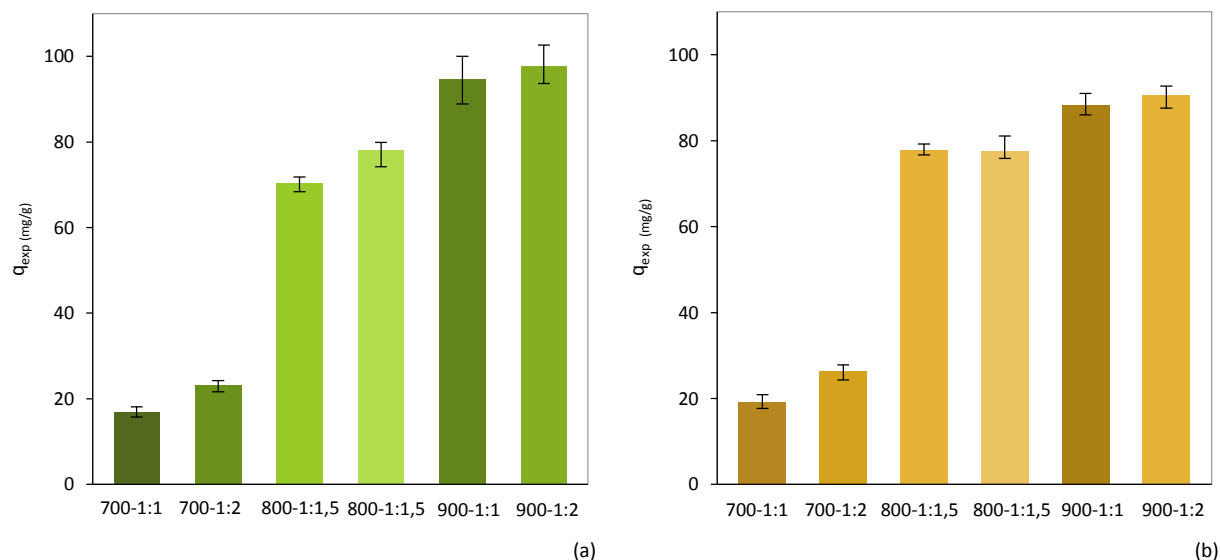
Fatores	Fatores Codificados	Nível		
		-1	0	1
T (°C)	$X_1$	700	800	900
Razão Impregnação	$X_2$	1:1	1:1,5	1:2

O precursor, casca de noz, foi previamente carbonizado a 300 °C e por um período de 1 hora (restantes condições indicadas na secção 3.2.1 do capítulo II) de modo a remover componentes não estruturais. A temperatura de carbonização foi selecionada com base no estudo termogravimétrico, já discutido na secção 2.1. O rendimento desta etapa foi de  $40,4 \pm 0,6$  % (valor médio obtido para dezasseis ensaios e respetivo desvio padrão). O material carbonizado foi posteriormente ativado quimicamente de acordo com o procedimento descrito na secção 3.2.1 do capítulo II). O rendimento da etapa de ativação (valor médio para os seis ensaios) foi de 61,8 %, com os valores a variar entre 61,1 e 62,4 %, para os ensaios realizados a 700 e 900 °C, respetivamente. O rendimento global (massa de carvão ativado/massa de casca de noz) registou o valor de 24,9 % (média para os seis ensaios).

Valores próximos dos obtidos foram reportados na literatura para um carvão ativado obtido por ativação química por KOH, tendo como precursor casca de noz carbonizada a 600 °C durante uma hora. Usando como condições de ativação uma razão de impregnação de 1:1, 900 °C e tempo de ativação de 1 hora, foi reportado um rendimento de 22,4 % para a etapa de carbonização e um rendimento global de 19,5 % [232].

A capacidade de remoção dos seis carvões ativados foi um dos primeiros parâmetros avaliados, tal como o pH no ponto de carga zero de cada um dos materiais. As condições dos ensaios de sorção foram fixadas para uma temperatura de 20 °C, um valor de pH 6 e concentração de antibiótico de 40 mg/L (testaram-se outros valores de concentração mas os que se apresentam permitem ter uma boa aproximação da capacidade máxima de sorção dos diferentes carvões ativados). Os resultados deste estudo são apresentados na Figura 19.

Os valores correspondem à média de seis réplicas, estando os materiais produzidos identificados através da associação da designação da temperatura de ativação, seguida da razão de impregnação empregue.



**Figura 19** Capacidades médias de remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) pelos carvões ativados produzidos.

A variável temperatura de ativação é a que maior influência exerce na capacidade de sorção de ambos os antibióticos. Os carvões produzidos a 700 °C registam capacidades de adsorção médias de 23,2 mg/g e 26,4 mg/g, para Metronidazol e Sulfametoxazol respetivamente, obtidas para uma razão de impregnação de 1:2. Em contraste as melhores capacidades de remoção, são observadas para os carvões produzidos a 900 °C, com valores de 97,8 mg/g para Metronidazol e de 90,8 mg/g para Sulfametoxazol.

A razão de impregnação tem de facto um efeito pouco expressivo na remoção, a maior diferença ocorre para os materiais produzidos a 700 °C. A capacidade de remoção de Metronidazol regista um aumento de 6,3 mg/g e para Sulfametoxazol a variação é de 7,2 mg/g. Destes ensaios, resulta claramente que o aumento da razão de impregnação, para o dobro, não tem vantagens, nas condições testadas. Deve ressaltar-se que o tempo de ativação foi fixado, não sendo por isso possível avaliar a sua influência e possíveis interações (efeitos combinados) entre esta variável e as variáveis temperatura e razão de impregnação.

Estes resultados foram ainda analisados, por recurso ao *software JMP 5.0.1*, com base no modelo que melhor permite relacionar as variáveis independentes (temperatura e razão de impregnação) e de resposta (capacidades de sorção). Procedeu-se inicialmente ao ajuste dos dados a um polinómio de 1º ordem (equação 4) e em função dos resultados obtidos, foram apenas mantidos nos modelos os termos significativos e novos ajustes foram realizados.

$$\hat{y} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2$$

**Equação 4**

A qualidade dos modelos ajustados foi avaliada por recurso aos coeficientes de determinação, análise da variância (ANOVA) e teste de falta de ajuste (*lack-of-fit test*). Informação mais pormenorizada, relativa aos resultados dos ajustes e respetiva validação, foi remetida para o Anexo C. Na Tabela 20 estão reunidas as condições experimentais do desenho, os resultados obtidos ( $q_{\text{exp}}$ ) e previstos pelo modelo ( $q_{\text{mod}}$ ). O desenho selecionado implicou a realização de um total de 6 ensaios e com réplica apenas para o ponto central (carvão ativado 800-1:1,5).

**Tabela 20** Desenho Experimental 2<sup>2</sup> – Condições experimentais, resultados obtidos ( $q_{\text{exp}}$ ) e previstos pelo modelo ( $q_{\text{mod}}$ ).

Ensaio	Fatores		Metronidazol		Sulfametoxazol	
	T (°C)	Razão de Impregnação	$q_{\text{exp}}$ (mg/g)	$q_{\text{mod}}$ (mg/g)	$q_{\text{exp}}$ (mg/g)	$q_{\text{mod}}$ (mg/g)
	$X_1$	$X_2$				
1	700	1:1	16,8	23,0	19,2	27,6
2	700	1:2	23,2	27,7	26,4	32,4
3	800	1:1,5	78,0	63,5	77,8	63,3
4	800	1:1,5	70,5	63,5	77,6	63,3
5	900	1:1	94,8	99,3	88,2	94,2
6	900	1:2	97,8	104,0	90,7	99,1

Os parâmetros dos modelos ajustados, para cada um dos antibióticos, estão reunidos na Tabela 21. Como já foi referido, o número de ensaios realizados apenas inclui uma réplica, para o ponto central, o que permite fazer uma estimativa do erro do ajuste (*lack-of-fit test*) mas com a ressalva de que os graus de liberdade associados a esta avaliação assumem o valor mínimo.

Os resultados dos ajustes permitem, contudo, comprovar a influência dos fatores testados, na gama de valores escolhida, na capacidade de remoção dos carvões ativados. O melhor ajuste é obtido para o antibiótico Metronidazol. O coeficiente de determinação de ~0,94 e o teste de falta de ajuste ( $p\text{-value} \geq 0,05$ ) são indicadores de um ajuste razoável. Para Sulfametoxazol, o ajuste é inferior, como se constata, quer pelo coeficiente de determinação, quer pelo parâmetro relativo à falta de ajuste. A qualidade dos ajustes pode ainda ser avaliada comparando os valores previstos para as capacidades de remoção e os obtidos experimentalmente (Tabela 20).

**Tabela 21** Parâmetros obtidos para os modelos de 1ª ordem ajustados aos sistemas em estudo.

	Metronidazol		Sulfametoxazol	
	Coefficiente	<i>p-value</i>	Coefficiente	<i>p-value</i>
$\beta_0$	63,5±4,6	1,0E-3	63,3±5,9	2,0E-3
$\beta_1$	38,1±5,6	7,0E-3	33,3±7,2	1,9E-2
$\beta_2$	2,4±5,6	0,70	2,4±7,2	0,76
$R^2$	0,9393		0,8770	
Falta de ajuste	0,27		0,0057	
<i>p-value</i>				

Os coeficientes dos modelos confirmam a temperatura de ativação como o único fator com influência significativa nas respostas (coeficiente  $\beta_1$ ). A razão de impregnação (coeficiente  $\beta_2$ ) não é estatisticamente significativa (para um nível de 95 %), como se confirma pelo valor de *p-value* (parâmetros para os quais  $p \geq 0,05$  não são estatisticamente significativos).

Para ambos os antibióticos, os valores que maximizam a resposta (que maximizam a capacidade de remoção) coincidem com o valor máximo fixado para a temperatura, não havendo vantagem em usar uma razão de impregnação 1:2. Os resultados não permitem, todavia, tirar conclusões quanto a condições ótimas de produção de carvão ativado. Só a realização de novos ensaios (por exemplo, uma expansão para um desenho composto centrado – CCD) permitiria avaliar melhor a importância dos efeitos e/ou interações e considerar a necessidade de incluir termos quadráticos no modelo matemático.

Desta análise destaca-se também a não significância estatística da razão de impregnação, sendo, por este motivo, importante considerar uma gama de valores diferente daquela que foi estudada. A possibilidade de usar razões de impregnação inferiores pode constituir uma vantagem e deverá ser avaliada. No âmbito do trabalho desenvolvido, estes novos estudos não foram considerados.

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS CARVÕES ATIVADOS PRODUZIDOS

A área específica e a distribuição de porosidade são propriedades de enorme importância para o desempenho de um adsorvente. Por forma a estimar estes parâmetros foram utilizadas, no presente trabalho, as técnicas de porosimetria de mercúrio e de adsorção de azoto a 77 K.

A técnica de porosimetria de mercúrio permitiu avaliar a distribuição de tamanho de poros na gama compreendida, aproximadamente, entre 0,00357 e 10,4  $\mu\text{m}$  (limites da técnica), e a correspondente área específica do material. Permitindo, portanto, estimar, essencialmente, a macro ( $d > 0,05 \mu\text{m}$ ) e mesoporosidade ( $0,002 < d < 0,05 \mu\text{m}$ ) dos materiais.

A aplicação da equação do modelo BET aos resultados experimentais das isotérmicas de azoto, na gama de linearidade (Anexo C), permitiu estimar o volume de microporos e as áreas específicas dos materiais. Este conjunto de parâmetros texturais, a par do pH no ponto de carga zero, foram estimados para os carvões ativados 700-1:1, 800-1:1,5 e 900-1:1. Os resultados, reunidos na Tabela 22 e na Figura 20, confirmam a influência das condições de ativação nas características dos materiais produzidos.

**Tabela 22** Características texturais dos carvões ativados produzidos e valor de pH no ponto de carga zero.

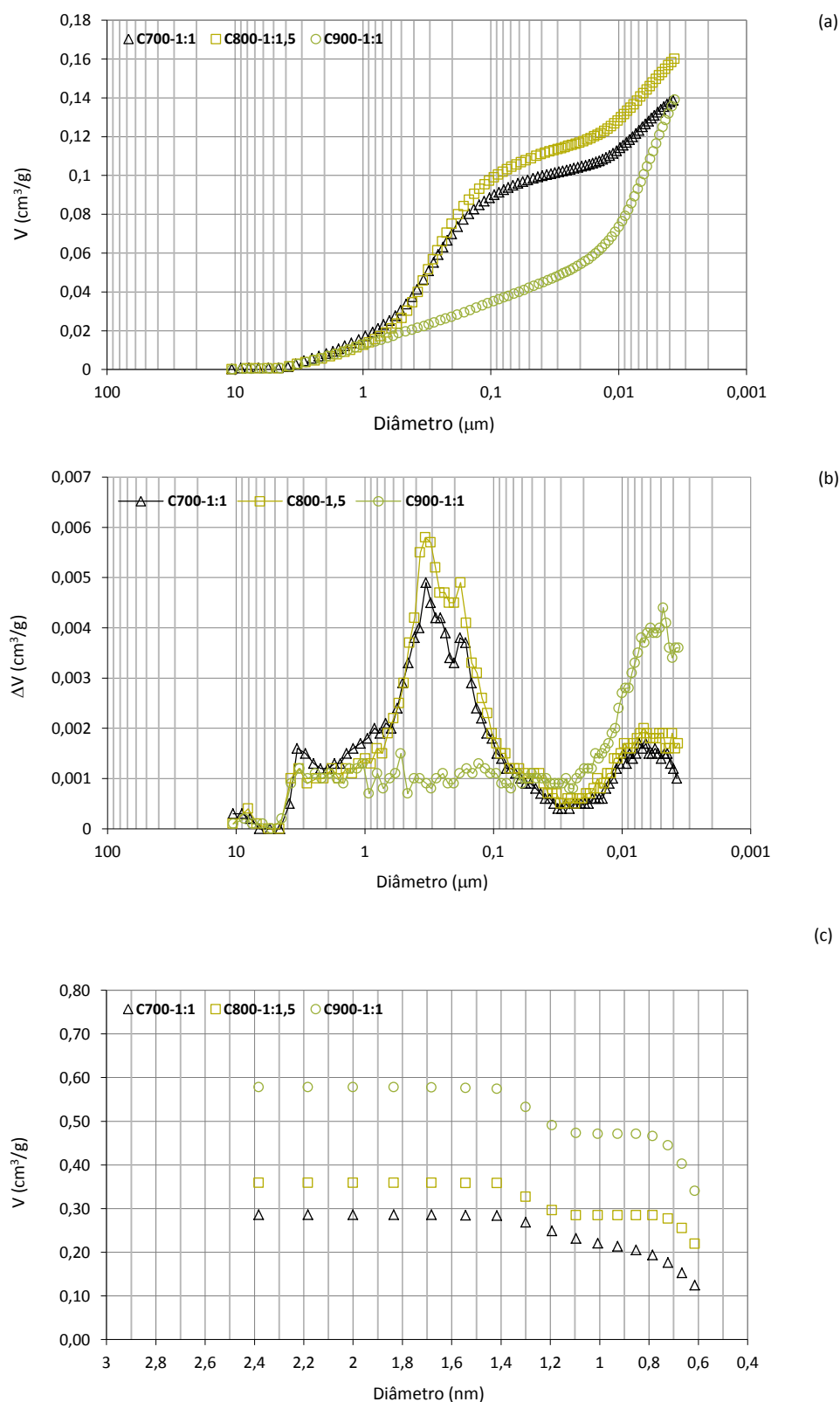
Carvão Ativado	Área <sub>Hg</sub> (m <sup>2</sup> /g)	V <sub>macroporos</sub> (cm <sup>3</sup> /g)	V <sub>mesoporos</sub> (cm <sup>3</sup> /g)	Área <sub>BET</sub> (m <sup>2</sup> /g)	V <sub>microporos</sub> (cm <sup>3</sup> /g)	pH <sub>pcz</sub>
700 - 1:1	22,6 (± 0,3)	0,0946 (±0,0008)	0,0406 (±0,0007)	583	0,285	5,75±0,04
800 - 1:1,5	31,0 (±2,4)	0,108 (±0,003)	0,0550 (±0,0036)	734	0,359	5,80±0,03
900 - 1:1	55,4 (±1,0)	0,0383 (±0,0032)	0,0969 (±0,0002)	1184	0,578	6,04±0,03

V<sub>macroporos</sub> - Volume de poros com diâmetro entre 10,4 - 0,05 µm (estimado por porosimetria de mercúrio para duas réplicas)

V<sub>mesoporos</sub> - Volume de poros com diâmetro entre 0,05 - 0,00357 µm (estimado por porosimetria de mercúrio para duas réplicas)

V<sub>microporos</sub> - Volume de poros com diâmetro entre 2 - 0,61 nm (estimado por adsorção de N<sub>2</sub> a 77K)

O perfil das curvas de intrusão permitem perceber a existência de regiões de intrusão de mercúrio distintas (Figura 20(a) e (b)). Observa-se uma acentuação no volume intrudido para uma gama de tamanho de poros compreendida, aproximadamente, entre 1 e 0,1 µm, com um diâmetro médio em torno de 0,3 µm, para as amostras 700-1:1 e 800-1:1,5. Verifica-se igualmente, para estas amostras, uma segunda zona de maior intrusão, já na gama de tamanho de poros correspondente à mesoporosidade, começando a ~0,01 µm e ~0,02 µm para as amostras 700-1:1 e 800-1:1,5, respetivamente até aos limites da técnica ~0,004 µm. Estas duas amostras apresentam uma distribuição de poros semelhante, apresentando a amostra 800-1:1,5 uma mesoporosidade mais desenvolvida, como se observa das curvas de intrusão e que se traduz num maior volume de mesoporos (0,0550 cm<sup>3</sup>/g vs 0,0406 cm<sup>3</sup>/g, Tabela 22).



**Figura 20** Curvas de intrusão de mercúrio, cumulativa (a) e incremental (b), e distribuição de tamanho de microporos por adsorção de  $\text{N}_2$  a 77 K (c).

A distribuição de tamanho de poros é significativamente diferente para a amostra de carvão ativado 900-1:1.

A intrusão de mercúrio ocorre de forma mais acentuada na gama compreendida entre 0,02 a 0,004  $\mu\text{m}$ .

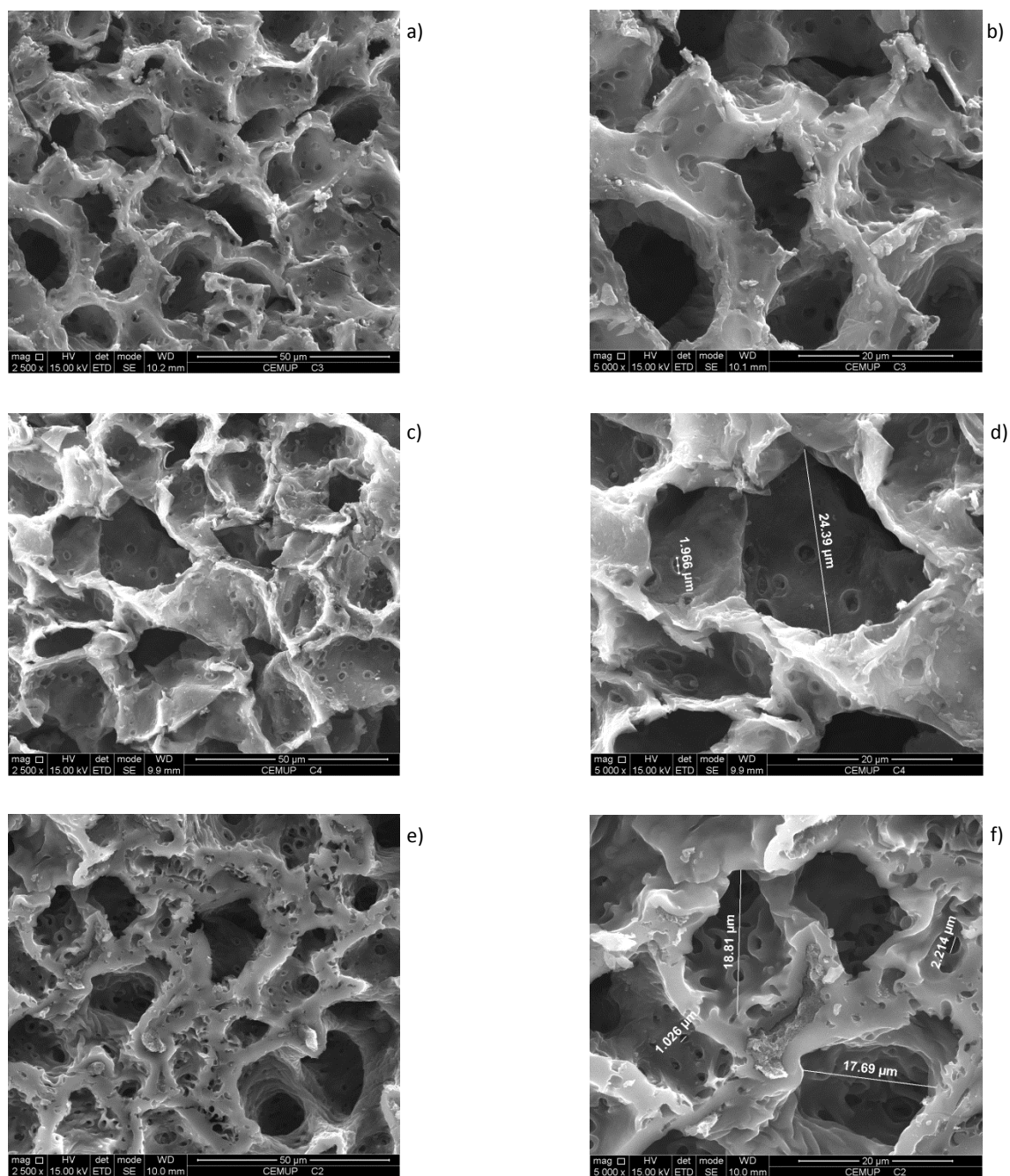
Ao contrário do observado para as amostras 700-1:1 e 800-1:1,5, o volume de mesoporos é para esta amostra superior ao volume correspondente à macroporosidade, 0,0969 e 0,0383 cm<sup>3</sup>/g respetivamente. Esta amostra apresenta uma distribuição de tamanho de poros mais alargada e uma mesoporosidade mais desenvolvida. As isotérmicas de adsorção de N<sub>2</sub> revelaram também para a amostra 900-1:1 uma maior microporosidade. Observa-se, para as amostras ativadas a 800 e 900 °C, um perfil de distribuição de microporos semelhante. Distinguem-se duas gamas de microporos compreendidas entre 1,4 nm até 1 nm e entre 0,8 até 0,6 nm. Para a amostra ativada a 700 °C, estas duas gamas são também perceptíveis mas a transição entre elas não é tão definida.

A influência, em particular da temperatura de ativação, nas propriedades texturais é distintiva. O aumento da temperatura de ativação traduziu-se em aumentos no volume de meso e microporos e consequentemente em materiais com áreas específicas superiores.

A natureza química da superfície dos carvões ativados é outro parâmetro com forte influência na capacidade de sorção de um carvão ativado ao determinar, em particular, as características ácido-base da superfície. A avaliação do pH no ponto de carga zero (ensaios realizados em duplicado) indica que todos os materiais são anfotéricos, apresentando uma superfície ligeiramente ácida. Verifica-se, como seria expectável, que maiores temperaturas de ativação conduziram a superfícies menos ácidas. Para temperaturas de ativação sucessivamente superiores, irá ocorrer uma maior remoção de heteroátomos da matriz (principalmente oxigénio) que determinam as propriedades ácido-base da superfície do carvão ativado.

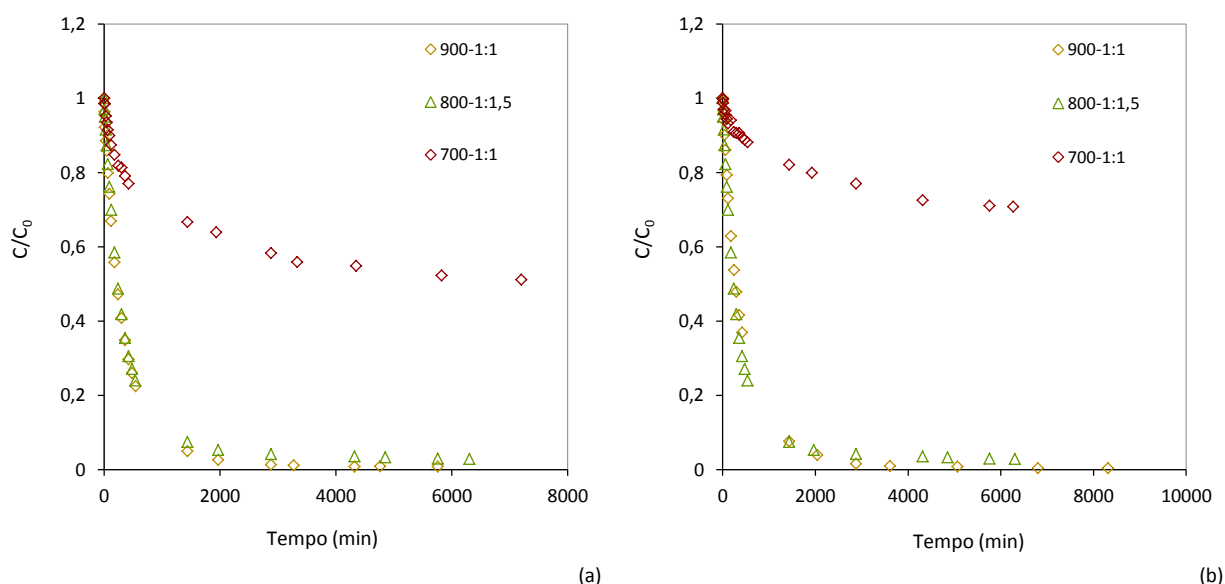
As imagens da superfície dos carvões ativados, reunidas na Figura 21 (imagens obtidas por microscopia de varrimento eletrónica), revelam uma morfologia rugosa e heterogénea. Estas imagens confirmam a influência do material precursor na estrutura porosa do carvão ativado, uma vez que é evidente em todos os materiais a memória da estrutura original da casca de noz (Figura 15). A porosidade que é visível nas imagens está compreendida na gama dos macroporos, apresentando uma acentuada variação no tamanho de poros.





**Figura 21** Imagens da superfície dos carvões ativados produzidos: 700-1:1 (a e b); 800-1:1,5 (c e d); 900-1:1 (e e f).

Procedeu-se, por último, à realização de um conjunto ensaios cinéticos de modo a avaliar a influência das características da matriz porosa dos carvões ativados na velocidade de sorção (na difusão dos solutos na matriz porosa). As condições dos ensaios de sorção foram fixadas para uma temperatura de 20 °C, um valor de pH 6 e concentração de antibiótico de 5 mg/L. Os resultados são apresentados na Figura 22.



**Figura 22** Variação da concentração de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) em função do tempo, para os carvões ativados produzidos.

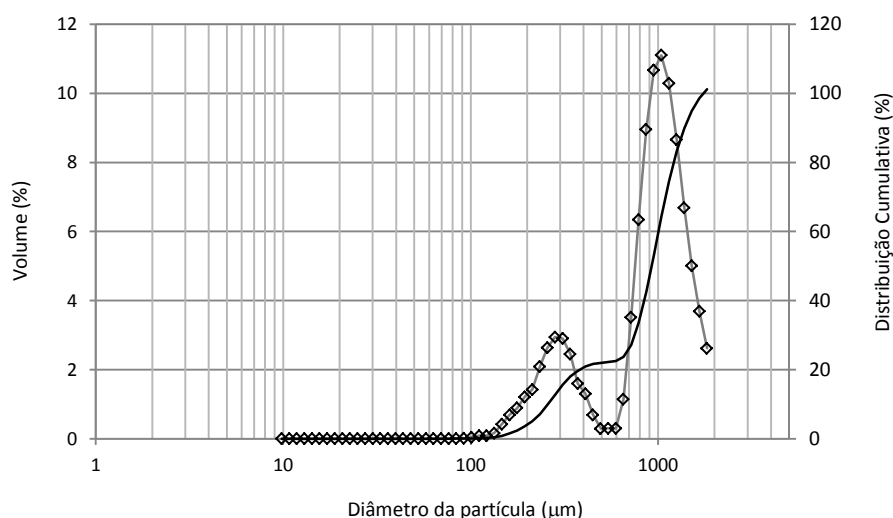
Excetuando o carvão ativado a 700 °C, para o qual é nítida a influência das características texturais, quer na velocidade de sorção, quer na sua extensão, os materiais ativados a 800 e 900 °C, apresentam nas condições testadas, desempenho semelhante.

Em resultado dos estudos descritos nesta secção, selecionaram-se como melhores condições de produção de carvão ativado: temperatura de 900 °C e razão de impregnação 1:1 - para um tempo de carbonização de 1 h. O carvão obtido nestas condições apresentou o melhor desempenho na remoção dos dois antibióticos, o maior volume de poros e de área específica.

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DO CARVÃO ATIVADO PRODUZIDO NAS CONDIÇÕES OTIMIZADAS

Para a produção do carvão ativado necessário à execução dos estudos subsequentes, realizaram-se 12 ensaios de carbonização/ativação. O material obtido foi lavado e seco de acordo com os procedimentos descritos na secção 3.2 do Capítulo II, sendo posteriormente combinado e objeto de separação/classificação granulométrica. A fração granulométrica selecionada para proceder à avaliação de desempenho do carvão ativado produzido esteve compreendida entre 710 e 1000  $\mu\text{m}$ .

Avaliou-se a distribuição granulométrica por espectrometria de difração de raios laser. Os resultados obtidos, média de dois ensaios, encontram-se representados na Figura 23.



**Figura 23** Distribuição granulométrica para o carvão ativado (fração 710-1000  $\mu\text{m}$ ).

A percentagem de partículas abaixo do limite inferior da gama de tamanhos previstos pela peneiração (710-1000  $\mu\text{m}$ ) foi de aproximadamente 25%. A distribuição de diâmetros é bimodal (modas a 282 e 1041  $\mu\text{m}$ ). De acordo com a análise granulométrica efetuada, aproximadamente 75% das partículas apresentam um diâmetro superior a 710  $\mu\text{m}$ , com 90% das partículas abaixo dos 1380  $\mu\text{m}$  de diâmetro. A existência de partículas com dimensões superiores aos peneiros utilizados na fase de separação poderá ser justificada pelo facto de a geometria das partículas não ser esférica.

A aplicação da equação do modelo BET aos resultados experimentais das isotérmicas de azoto, na gama de linearidade, permitiu estimar o volume de microporos e a área específica do material. Determinou-se uma área específica e um volume de microporos de 934  $\text{m}^2/\text{g}$  e 0,457  $\text{cm}^3/\text{g}$ , respetivamente.

A caracterização da química superficial foi avaliada de acordo com o método Boehm (avaliação dos grupos funcionais e acidez/basicidade total) e o ponto de carga zero estimado através do método da variação de pH. Os resultados estão reunidos na tabela 23.

**Tabela 23** Valores de acidez e basicidade total, grupos funcionais superficiais e pH no ponto de carga zero, obtidos para o carvão ativado

$\text{pH}_{\text{pcz}}$	Grupos Ácidos Totais	Grupos Básicos Totais	Grupos funcionais			
			R-COOH	R-OCO	R-OH	R-C=O
			(meq /100 g de carvão)			
6,08 $\pm$ 0,03	138,5 $\pm$ 5,2	34,7 $\pm$ 1,8	12,8 $\pm$ 1,8	17,1 $\pm$ 1,9	30,1 $\pm$ 5,5	78,5 $\pm$ 7,0

Os resultados revelam uma superfície de características ácidas, ainda que ligeiramente ácidas. Mas como seria de prever, bem menos ácida do que material precursor ( $\text{pH}_{\text{pcz}}$  da casca de noz estimado em 4,4) como o confirma o valor obtido para o  $\text{pH}_{\text{pcz}}$  de  $6,08 \pm 0,03$ . A acidez total é aproximadamente 4 vezes superior à basicidade, mas, no entanto, os grupos funcionais mais ácidos (carboxílicos e lactonas) representam apenas 22 % da acidez observada. São os grupos menos ácidos que parecem predominar à superfície, o que está em concordância com o valor obtido para o  $\text{pH}_{\text{pcz}}$ .

## 4 ESTUDOS DE ADSORÇÃO

A adsorção é um processo de transferência de massa que envolve a acumulação de substâncias na interface de duas fases, no caso presente uma interface sólido-líquido, resultado da(s) interação(s) entre o adsorvato e o adsorvente. Sendo certo que a transferência das substâncias de uma fase para outra tem como força motriz, a diferença de concentrações entre o seio do fluido e a superfície do adsorvente, ela é contudo influenciada por fatores tais como: (i) as propriedades texturais do adsorvente, (ii) composição química superficial (grupos funcionais), (iii) características do soluto (solubilidade, hidrofobicidade, constantes de dissociação ácido-base, grupos funcionais e dimensões), (iv) propriedades da solução (pH, força iônica e temperatura) [144,150,163,215,302-304].

A compreensão dos mecanismos que regulam este fenómeno constitui, desde há muitos anos, uma área de intensa pesquisa. A complexidade destes estudos é significativa, quer pelo elevado número de variáveis em ação (com capacidade de influência), quer pela existência de relações de dependência que acrescem dificuldade à análise dos resultados e à percepção de que mecanismos operam e quais as suas contribuições relativas para a remoção [133,144,145,159,161,163,172,302,303,305].

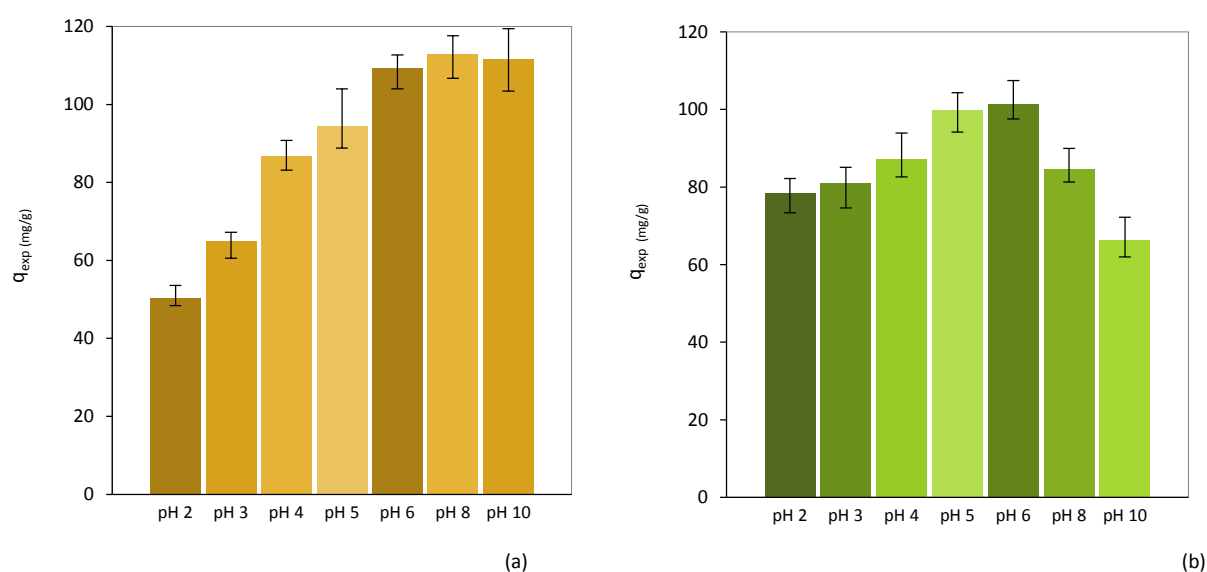
O aumento da carga poluente, particularmente a de natureza orgânica, nos recursos hídricos e a crescente consciência da presença de uma nova classe de substâncias - os fármacos - representam novos desafios e tornam mais premente a necessidade de desenvolver esforços no sentido de conseguir prever, com base em informação sobre as propriedades físicas e/ou químicas dos solutos e adsorventes, que interações se estabelecem entre estes e quais as condições que as otimizam, com vista a uma efetiva remoção destas substâncias do meio aquático. Até ao presente, não foi ainda possível fazê-lo, o que obriga a que a análise seja muitas vezes individual ou, na melhor das hipóteses, para classes de compostos [133,138,144,145, 302,303,305,306].

### 4.1 ENSAIOS PRELIMINARES

A importância da química da solução na remoção de diversas classes de compostos farmacêuticos ionizáveis tem sido reconhecida em diversos estudos, não sendo muitas vezes evidente que mecanismos atuam. É contudo consensual que a explicação reside nas interações, que se estabelecem entre adsorvente, adsorvato e solvente, e da sua dependência, em particular, do pH do meio e/ou da força iônica [130,133,138,145,187,305].

O pH é reconhecidamente um dos parâmetros mais importantes ao assumir, muitas vezes, um “duplo papel”, pois condiciona simultaneamente a carga superficial do adsorvente e a ionização/especiação dos solutos, com efeitos na solubilidade e hidrofobicidade [184,189,304,307-311].

A influência do pH na remoção dos dois antibióticos em estudo foi um dos primeiros parâmetros avaliados. Os dois fármacos são substâncias ionizáveis podendo, em função do pH do meio, coexistir em solução as suas formas neutras e ionizadas (Figura 5). A remoção destas espécies pode ser significativamente afetada pelo pH e ser controlada por diferentes mecanismos, eventualmente a operar em simultâneo [33,130,145,215,304,308-310,312]. Desta forma, procedeu-se à realização de uma série de ensaios preliminares que permitissem avaliar e confirmar a influência deste parâmetro na extensão da remoção (as restantes condições experimentais foram mantidas constantes: concentração inicial (40 mg/L), dosagem de adsorvente (10 mg) e temperatura (20 °C). Os resultados estão reunidos na Figura 24. A remoção dos dois antibióticos exhibe um padrão de dependência do pH claramente distinto. Os resultados assinalam que a protonação/desprotonação, quer dos grupos funcionais dos solutos, quer da superfície do carvão ativado, ambas mediadas pelo pH, justificam as diferenças observadas.



**Figura 24** Efeito do pH na remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b).

Observa-se para Metronidazol um aumento progressivo na remoção em função do aumento do pH da solução. Na gama de valores estudada, a especiação do antibiótico regista alterações significativas. Para o valor mais baixo de pH avaliado, a forma catiónica irá predominar em solução (~80 %), diminuindo à medida que o pH aumenta, sendo que para valores de pH ~4,5 a forma neutra representa já ~100 % (Figura 5). Paralelamente, a carga à superfície do carvão ativado sofre também importantes alterações ( $pH_{pcz} = 6,08$ ). O pH exerce ainda influência na solubilidade (e na hidrofobicidade) do antibiótico, cujo valor máximo, nas condições deste estudo, irá coincidir com o valor de pH 2 e irá diminuir com o aumento de pH (à medida que a forma catiónica diminui em solução) [201,211].

Não é surpreendente, portanto, que a menor eficiência de remoção ocorra a pH 2, pois são condições para as quais a superfície do adsorvente apresenta maior densidade de cargas positivas ( $pH_{solução} < pH_{pcz}$ ) e a espécie catiónica predomina em solução – as repulsões eletrostáticas serão máximas. À medida que o pH aumenta a repulsão eletrostática diminui, observando-se um aumento na remoção do antibiótico.

Para pH 6, a superfície do carvão ativado irá apresentar uma carga global nula ( $\text{pH}_{\text{solução}} \sim \text{pH}_{\text{pcz}}$ ), encontrando-se em solução apenas a forma neutra. As interações de natureza eletrostática não desempenham nenhum papel no mecanismo de remoção, e serão as interações de natureza dispersiva (interações  $\pi$ - $\pi$ ) e/ou hidrofóbicas que governam o processo. Com o contínuo aumento do pH, a carga global da superfície do adsorvente irá assumir valores mais negativos ( $\text{pH}_{\text{solução}} > \text{pH}_{\text{pcz}}$ ), o que aparenta não influenciar, significativamente, a remoção de Metronidazol.

Embora se registem valores médios de remoção a pH 8 e 10 superiores aos observados a pH 6, a diferença poderá não ser muito significativa, atendendo a variabilidade dos resultados experimentais. Comportamentos semelhantes para a eficiência da remoção (ou da capacidade de adsorção) em função do pH são referenciados em alguns estudos recentemente publicados [215,31,314].

O antibiótico Sulfametoxazol apresenta uma variação na especiação mais expressiva (Figura 5). Dependendo do valor de pH do meio, este fármaco poderá encontrar-se, quer sua forma neutra e/ou ionizada (positiva ou negativamente). Os resultados obtidos parecem refletir a variabilidade da especiação deste composto.

À semelhança de Metronidazol, o pH do meio condiciona, quer a solubilidade, quer a hidrofobicidade do antibiótico Sulfametoxazol. O perfil de variação destes dois parâmetros em função do pH é aproximadamente parabólico – observa-se para pH  $\sim 3,7$  um valor mínimo para a solubilidade e um máximo para a hidrofobicidade [102,103,209,210]. A solubilidade assume valores que podem variar desde  $\sim 18 \times 10^{-3}$  mg/L a pH  $\sim 7,5$  até  $\sim 600$  mg/L para valores de pH  $\sim 2$  (a 25 °C). Registando-se para a hidrofobicidade variações igualmente significativas, com valores de  $\text{pD}_{\text{ow}}$  (valores para o coeficiente de partição octanol-água em função do pH) de -0,63 a pH 2, de 0,68 a pH 7 e 2,14 para pH 11 [209,210,309]. Apresentando-se, portanto, a forma aniônica de Sulfametoxazol como a mais solúvel e hidrofílica.

Em contraposição com o observado para o antibiótico Metronidazol, a menor eficiência de remoção de Sulfametoxazol, ocorre para pH 10. Estas são condições para as quais a superfície do adsorvente apresenta maior densidade de cargas negativas ( $\text{pH}_{\text{solução}} > \text{pH}_{\text{pcz}}$ ) e a espécie aniônica predomina em solução (100 %) – as repulsões eletrostáticas serão, portanto, máximas. À medida que o pH diminui, a repulsão eletrostática vai diminuindo e observa-se um aumento na remoção do antibiótico. Os dados sugerem que valores de pH em torno do ponto de carga zero maximizam a remoção deste fármaco. Para pH 6, a superfície do carvão ativado irá apresentar uma carga global nula ( $\text{pH}_{\text{solução}} \sim \text{pH}_{\text{pcz}}$ ), sendo portanto as repulsões eletrostáticas mínimas. As eficiências de remoção registadas a pH 5 e 6 apresentam valores próximos, o que é interessante, tendo em conta que entre estes dois valores de pH, a especiação vai sofrer uma inversão. Se a pH 5 é a forma neutra que predomina em solução com  $\sim 80$  % (com a forma aniônica a corresponder a  $\sim 20$  %), a pH 6 a forma aniônica assume  $\sim 72$  % e a neutra  $\sim 28$  %. Esta alteração tão expressiva da especiação não parece afetar, significativamente, a remoção do fármaco. Resultados similares de dependência da remoção com o valor de pH têm sido descritos na literatura para o antibiótico Sulfametoxazol [307-310].

Interações de natureza hidrofóbica e/ou dispersiva (interações  $\pi$ - $\pi$ ) serão os principais mecanismos a dominar a remoção, nesta zona de pH, o que pode justificar o facto, de na remoção, a alteração da especiação ter pouco impacto. É provável que a contribuição relativa dos dois mecanismos para a remoção, na faixa de pH em causa, seja alterada, mas do ponto de vista global, a eficiência de remoção é pouco afetada. A sucessiva diminuição do pH vai traduzir-se numa diminuição da remoção de Sulfametoxazol. A carga global da superfície do adsorvente assume valores mais positivos ( $\text{pH}_{\text{solução}} < \text{pH}_{\text{pcz}}$ ) e simultaneamente vai aumentando em solução a forma catiónica de Sulfametoxazol. No entanto, quer a espécie catiónica de Sulfametoxazol, quer a de Metronidazol, não assumem grande relevância ambiental (Figura 5). As espécies carregadas positivamente dificilmente estarão em solução, nas condições típicas de pH, quer das estações de tratamentos de águas residuais/efluentes residuais, quer de águas ambientais.

Globalmente, os resultados apontam para que valores próximos do ponto de carga zero do carvão ativado representem uma boa solução de compromisso para a remoção destes dois fármacos. Este assunto será, no entanto, aprofundado, nas secções seguintes. Remeteram-se para o Anexo D os resultados relativos à influência da força iónica na eficiência de remoção. Esta é, a par do pH do meio, uma das propriedades da solução que mais pode afetar as interações (em particular as de natureza eletrostáticas) entre a superfície do carvão ativado e os solutos [150,179]. Contudo, para as condições empregues neste estudo, este parâmetro revelou não influenciar, de modo significativo, a remoção dos antibióticos (para um nível de confiança de 95 %). Os resultados relativos à avaliação deste parâmetro constam do Anexo D.

## 4.2 ESTUDOS CINÉTICOS

O estudo da cinética de sorção é, em conjunto com o estudo de equilíbrio, fundamental para a compreensão do fenómeno de sorção. Na prática, a avaliação da velocidade de sorção precede a aplicação de modelos de equilíbrio, uma vez que é necessário conhecer o tempo para o qual não se verificam, no sistema, alterações nas concentrações das fases líquida e sólida. Isto é o denominado tempo de equilíbrio. São diversos os modelos disponíveis para descrever a velocidade de sorção de um soluto numa matriz sólida, sendo normalmente classificados de acordo com as etapas que se assumem como controlantes da velocidade global do processo [315-321].

Em geral, a sorção compreende quatro etapas distintas: (i) transporte, do soluto, do seio da solução até à camada limite do filme que rodeia as partículas do adsorvente; (ii) transporte, através do filme até à superfície do adsorvente (mecanismo de difusão externa ou no filme); (iii) difusão através da matriz do sólido (mecanismo de difusão intraparticular - compreende a difusão nos poros e a difusão superficial nas paredes do sólido); (iv) interação com a superfície do adsorvente por ligação física e/ou química. A velocidade individual a que ocorre cada uma destas etapas determina a cinética global da sorção, sendo a que apresentar a menor velocidade a etapa limitante [315,317,319,320,322].



Num sistema com agitação, a influência da primeira etapa na velocidade global é negligenciável, e as três etapas subsequentes são as que, individualmente ou em algumas situações conjuntamente, condicionam a velocidade do processo de sorção. Modelos que consideram as etapas de transporte de massa externo e/ou interno, como limitantes da cinética são, geralmente, designados por modelos difusionais. Estes podem dividir-se em modelos exclusivamente de difusão externa ou de difusão intraparticular, ou em modelos combinados, isto é modelos que consideram ambas as resistências, externa e interna [317,320]. Modelos que assumem como etapa limitante a sorção do soluto (etapa iv) são classificados como modelos reacionais ou de reação [317,318,320].

#### 4.2.1 Modelos de Reação

Os modelos cinéticos mais comuns são os de pseudo-1ª ordem e de pseudo-2ª ordem. Estas duas leis cinéticas assentam no pressuposto de que a etapa limitante reside na sorção, o que não é, geralmente, verdadeiro. Esta etapa do processo de sorção é normalmente considerada instantânea, no entanto, estes dois modelos de reação representam particularmente bem diversos sistemas de adsorção, o que aliado, à sua simplicidade, justifica a sua vasta aplicabilidade [316-318,320]. Os modelos cinéticos de pseudo-1ª ordem e pseudo-2ª ordem são representados, na sua forma integrada, pelas equações 5 e 6, respetivamente:

$$q = q_e [1 - \exp(-k_1 t)] \quad \text{Equação 5}$$

$$q = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t} \quad \text{Equação 6}$$

A variável  $q$  (mg/g) representa a quantidade de soluto adsorvida por unidade de massa de adsorvente para cada instante  $t$  (min); o parâmetro  $q_e$  (mg/g) designa a quantidade adsorvida no equilíbrio (mg/g) e  $k_1$  ( $\text{min}^{-1}$ ) e  $k_2$  ( $\text{mg/g} \cdot \text{min}^{-1}$ ) são, respetivamente, as constantes cinéticas de pseudo-1ª e 2ª ordem. O ajuste não-linear dos dados experimentais (variáveis  $q$  e  $t$ ) permite determinar os parâmetros dos modelos,  $q_e$  e as respetivas constantes cinéticas.

#### 4.2.2 Modelos de Difusão

Os mecanismos de transferência de massa externa (difusão externa) e interna (difusão intraparticular) são geralmente descritos como determinantes na remoção, de substâncias dissolvidas, por adsorção em matrizes sólidas [315,317,320-322]. Alguns modelos consideram ambas as resistências, externa e interna, como controlantes, contudo, a grande maioria considera apenas uma, normalmente a interna, assumindo que as condições de agitação permitem ignorar o efeito da difusão no filme externo [215,317,320].

Para processos em que a limitação da velocidade resida na transferência de massa no filme que rodeia as partículas, a equação 7 permite determinar, partindo dos dados iniciais da curva de sorção, o coeficiente de transferência de massa externo (no filme),  $k_f$ .

$$C_t = C_i \exp\left(-\frac{3mk_f}{V\rho R}t\right) \quad \text{Equação 7}$$

As concentrações iniciais e para um dado instante  $t$  (min) são representadas por  $C_i$  e  $C_t$ , respetivamente, em mg/L;  $V$  designa o volume de solução (L);  $R$  representa o raio médio das partículas (m);  $\rho$  indica a massa volúmica aparente do adsorvente (g/L) e  $m$  representa a massa de adsorvente (g). Este modelo assume que a concentração na superfície do sólido tende para zero e que o mecanismo de difusão intraparticular é negligenciável durante o período inicial de contacto entre as fases [215,320-323]. Nestas condições, o parâmetro  $k_f$  ( $\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$ ) poderá estimar-se por ajuste não-linear dos dados experimentais.

Os modelos que procuram descrever os fenómenos de difusão intraparticular apresentam maior complexidade matemática, uma vez que podem considerar, simultaneamente, os dois mecanismos de difusão intraparticular, a difusão superficial no sólido (definida pela difusividade superficial no sólido,  $D_s$ ) e a difusão nos poros (definida pela difusividade efetiva do fluido nos poros,  $D_p$ ) e assumir diferentes geometrias para as partículas de adsorvente.

Encontram-se na literatura diversas abordagens em que se assumem hipóteses que permitem a simplificação destes modelos, conferindo-lhes maior aplicabilidade [317,320,322]. O modelo de difusão homogénea no sólido (MDHS), desenvolvido por Crank, constitui uma das abordagens mais comuns para descrever da transferência de massa num sólido esférico, homogéneo e amorfo, de raio  $r$  (m), assumindo que a difusividade intraparticular do soluto,  $D$  ( $\text{m}^2/\text{min}$ ) é constante em todos os pontos da partícula (equações 8 e 9) [317,322].

$$\frac{q}{q_e} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{D_s n^2 \pi^2 t}{r^2}\right) \quad \text{Equação 8}$$

$$\frac{q}{q_e} = 6 \left(\frac{Dt}{r^2}\right)^{0,5} \left[ \frac{1}{\pi^{0,5}} + 2 \sum \text{ierfc}\left(-\frac{nr}{\sqrt{D_i t}}\right) \right] - \frac{3Dt}{r^2} \quad \text{Equação 9}$$

Para tempos curtos, ou mais precisamente quando  $q/q_{\infty} < 0,3$ , a equação 8 pode ser simplificada:

$$\frac{q}{q_{\infty}} = \frac{6D_s^{0,5}}{\pi^{0,5}r} t^{0,5} \quad \text{Equação 10}$$

Desta forma, considerando os momentos iniciais da curva de sorção (para as quais a assunção de uma concentração constante à superfície é uma aproximação razoável e assumindo que a resistência externa é negligenciável) a representação de  $q/q_{\infty}$  vs  $t^{1/2}$  será linear e através do declive será possível estimar  $D$  ( $\text{m}^2/\text{min}$ ) [317,322].

Com base na equação 10, Weber e Morris (modelo de difusão de Weber e Morris) propuseram a seguinte expressão:

$$q = kt^{0.5} + c$$

**Equação 11**

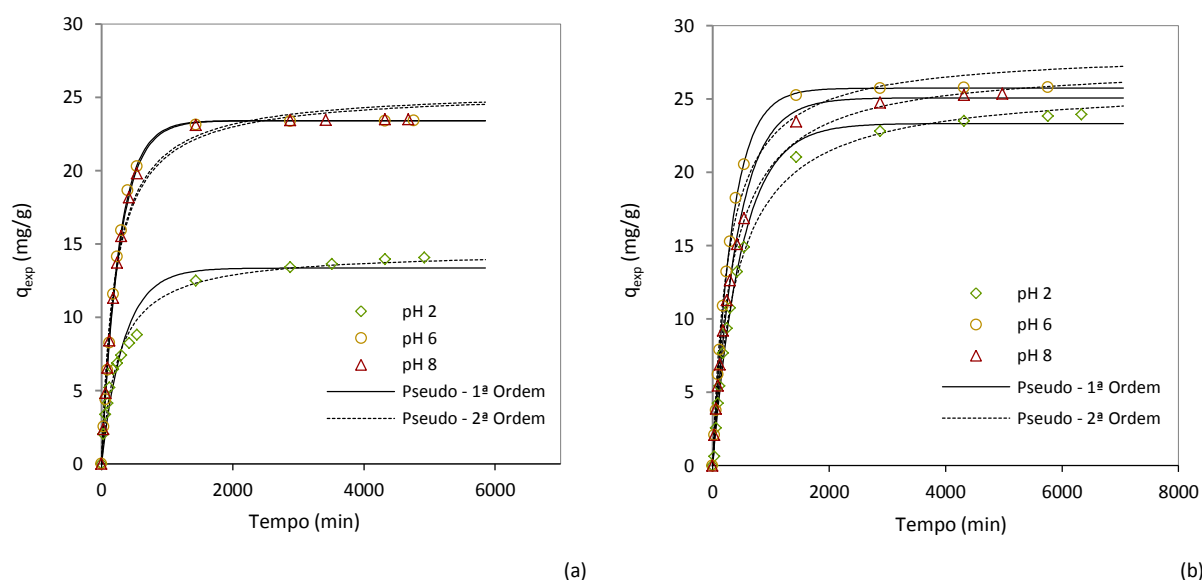
onde  $k$  ( $\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{min}^{0.5})$ ) é a constante de velocidade de difusão intraparticular. Esta equação, amplamente utilizada pela sua simplicidade, é considerada uma forma expedita de avaliar a importância da resistência interna (*root-t test*). Se ocorrer difusão interna,  $q$  vs  $t^{0.5}$  será linear e se passar na origem (se a constante  $C$  assumir o valor zero) a difusão intraparticular assume-se como a etapa controlante [317,320].

#### 4.2.3 Resultados da Avaliação Cinética – Modelos de Reação

A sorção do soluto pela fase sólida depende, como já foi sublinhado, de múltiplos fatores, destacando-se as características do sorvente e do soluto, da química da solução e da temperatura. Atendeu-se, em particular, nesta avaliação da cinética, à influência que parâmetros como pH e temperatura podem manifestar no processo. As restantes condições experimentais foram mantidas constantes em todos os ensaios.

A avaliação da velocidade do processo é fundamental para tentar compreender qual o(s) mecanismo(s) que opera(m) mas igualmente para estabelecer o tempo necessário para que o sistema atinja o equilíbrio. E é em função deste critério que os resultados obtidos foram primeiramente analisados.

A avaliação da cinética de adsorção, por ajuste aos modelos de reação de pseudo-1ª ordem e pseudo-2ª ordem, está representada na Figura 25, (dados experimentais e respetivas curvas de ajuste). Os parâmetros relativos a cada ajuste estão reunidos na Tabela 24. Os modelos foram ajustados, para todo o tempo de contacto, por regressão não-linear (com recurso ao programa *JMP 5.0.1* e à função *Solver* do *Excel*). A adequação dos modelos aos dados experimentais foi avaliada, com base nos coeficientes de determinação, resíduos e variância. A comparação entre modelos foi realizada por meio do teste F para um nível de confiança de 95 %. Encontra-se no Anexo E informação mais detalhada sobre os ajustes e validação.



**Figura 25** Efeito do pH na cinética de remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b): Modelos de pseudo - 1ª e 2ª ordem.

**Tabela 24** Parâmetros de ajuste dos modelos de pseudo-1ª ordem e pseudo- 2ª ordem obtidos para diferentes condições de pH.

pH	q <sub>eq</sub> (Exp.) (mg/g)	Pseudo - 1ª ordem				Pseudo - 2ª ordem			
		q <sub>eq</sub> (mg/g)	k <sub>1</sub> .10 <sup>3</sup> (min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	S <sup>2</sup>	q <sub>eq</sub> (mg/g)	k <sub>2</sub> .10 <sup>4</sup> (g/mg.min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	S <sup>2</sup>
Metronidazol									
2	14,1	13,4±1,0	2,9±0,7	0,9540	0,9	14,5±0,7	2,6±0,5	0,9895	0,3
6	23,4	23,4±0,3	3,8±0,1	0,9991	0,07	25,5±1,5	1,9±0,5	0,9802	1,4
8	23,5	23,4±0,1	3,6±0,6	0,9998	0,02	25,4±1,1	1,9±0,4	0,9887	0,8
Sulfametoxazol									
2	24,0	23,3±0,5	2,0±0,1	0,9969	0,3	26,0±0,7	0,9±0,1	0,9969	0,3
6	25,8	25,7±0,2	3,0±0,07	0,9997	0,03	28,3±1,4	1,3±0,3	0,9879	1,1
8	25,5	25,1±0,5	2,3±0,2	0,9968	0,3	27,4±0,5	1,1±0,09	0,9980	0,2

Começando por considerar o efeito do parâmetro pH, verifica-se que há uma influência clara e distinta na velocidade de remoção dos antibióticos em estudo. O modelo de pseudo-1ª ordem, com valores de coeficiente de determinação ( $R^2$ ) superiores a 0,99, menor variância ( $s^2$ ) e registrando ainda uma maior coincidência entre a capacidade de equilíbrio experimental ( $q_{eq}$  exp) e a calculada ( $q_{eq}$ ), representa melhor, de um modo geral, os dados experimentais. A exceção mais relevante a este comportamento é observada para o antibiótico Metronidazol, para os ensaios realizados a pH 2. Neste caso o modelo de pseudo-2ª ordem é ligeiramente superior.

Quando comparados os modelos com base no *Teste-F* (para um nível de confiança de 95 %), confirma-se que o modelo de pseudo-1ª ordem descreve melhor os resultados experimentais (existe uma diferença estatisticamente significativa nas variâncias residuais dos modelos). Contudo, para o antibiótico Sulfametoxazol e para os ensaios a pH 2 e 8, não há diferenças significativas entre os dois modelos (Anexo E).

No perfil das curvas cinéticas, podem distinguir-se duas etapas ou fases, sendo a primeira mais rápida (até ~540 min) e a última naturalmente mais lenta, uma vez que corresponde ao estabelecimento do equilíbrio entre as fases líquida e sólida. O tempo necessário para se atingir o equilíbrio ocorre até às 48h de contacto para todos os sistemas antibiótico/pH avaliados.

Os ensaios realizados a pH 2, para ambos os antibióticos, e a pH 8, para Sulfametoxazol, apresentam as cinéticas mais lentas, com o tempo de equilíbrio ocorrendo ao fim de um período de contacto de 48 h (após as 48 h a variação observada na quantidade adsorvida foi inferior a 5 %). Para os restantes ensaios, o equilíbrio é estabelecido em torno das 24 h (com 99 % da quantidade adsorvida no equilíbrio).

Observa-se para Metronidazol, com a exceção do ensaio a pH 2, as maiores velocidades de remoção, verificando-se, nas condições do estudo, que as curvas cinéticas a pH 6 e 8 são praticamente coincidentes ao longo de todo o período de contacto. Os resultados parecem indicar, à semelhança do que já foi referido nos ensaios preliminares, que a forma neutra é preferencialmente removida. A pH 2 ( $\text{pH}_{\text{solução}} < \text{pH}_{\text{pcz}}$ ), a superfície do carvão apresenta-se carregada positivamente e a forma catiónica de Metronidazol predomina em solução (~80 %) e, provavelmente, em resultado das interações eletrostáticas a remoção do antibiótico é afetada, quer na sua velocidade, quer na sua extensão. A menor capacidade de remoção observada (14,1 mg/g) é também consequência do enfraquecimento das interações hidrofóbicas em resultado da maior solubilidade da espécie catiónica e menor coeficiente de partição octanol-água (Tabela 9).

Em contraste, os restantes ensaios ocorrem em condições de pH para os quais apenas a forma neutra ou molecular do antibiótico se encontra em solução. Já a superfície do carvão ativado irá apresentar uma carga global nula a pH 6 ( $\text{pH}_{\text{solução}} \sim \text{pH}_{\text{pcz}}$ ) e a pH 8 uma carga global negativa ( $\text{pH}_{\text{solução}} > \text{pH}_{\text{pcz}}$ ), o que aparenta não influenciar a remoção de Metronidazol.

À semelhança de Metronidazol, o antibiótico Sulfametoxazol apresenta para pH 2 a menor velocidade de remoção e as interações eletrostáticas, que se estabelecem entre adsorvente e adsorvato, podem oferecer uma justificação, uma vez que nestas condições de pH a forma catiónica de Sulfametoxazol, em solução, atinge aproximadamente 42 %. Os resultados a pH 6 e 8 sugerem que a forma aniónica de Sulfametoxazol, em particular a pH 6 ( $\text{pH}_{\text{solução}} \sim \text{pH}_{\text{pcz}}$ ), apresenta maior afinidade para a superfície do carvão ativado relativamente à forma catiónica.

É interessante verificar que condições de pH próximas do valor do ponto de carga zero parecem assegurar, para os dois antibióticos, uma cinética mais rápida.

Os resultados obtidos indicam que o pH da solução exerce também influência na cinética de remoção de ambos os antibióticos, que pode ser compreendida quando se relaciona o efeito deste parâmetro na química de superfície do adsorvente e na especiação dos antibióticos. A importância do pH na remoção de diversas classes de compostos farmacêuticos ionizáveis tem sido reconhecida em diversos estudos, não sendo ainda claro quais os mecanismos envolvidos. É contudo consensual que a explicação reside nas interações, que se estabelecem entre adsorvente, adsorvato e solvente, e da dependência destas do valor de pH do meio [130,133,138,145,305].

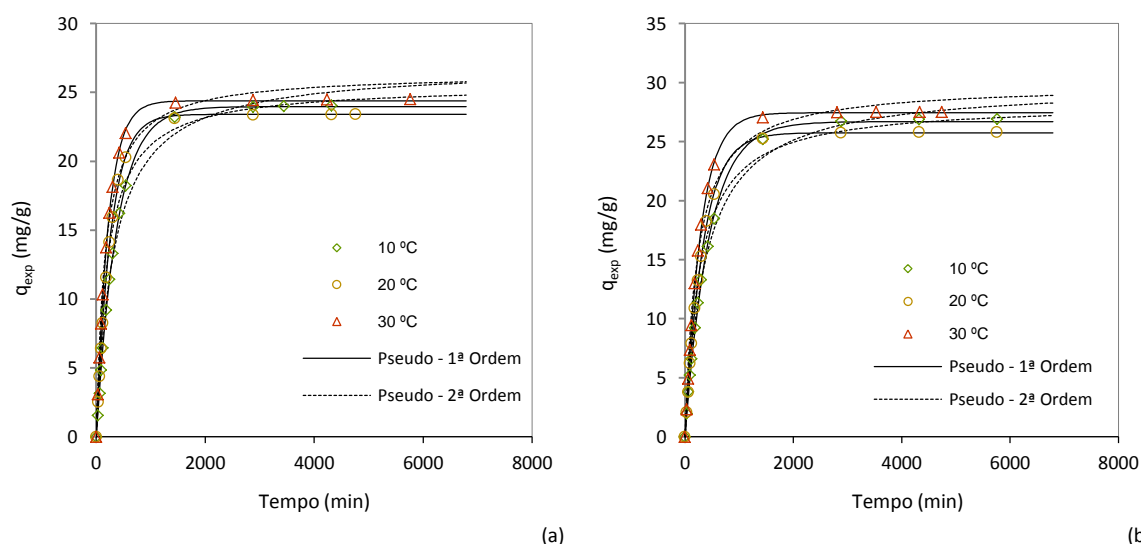
No que se refere ao efeito da temperatura na cinética, apenas avaliada para pH 6, os resultados revelam que esta exerce uma influência favorável (Tabela 25; Figura 26). O aumento da temperatura traduz-se num aumento na velocidade de remoção. O que constitui um resultado expectável uma vez que a velocidade de difusão aumenta com o aumento da temperatura [324-326].

**Tabela 25** Parâmetros de ajuste dos modelos de pseudo-1ª ordem e pseudo-2ª ordem obtidos para diferentes temperaturas.

Pseudo-1ª ordem						Pseudo-2ª ordem			
T	q <sub>eq</sub> (exp)	q <sub>eq</sub>	k <sub>1</sub> .10 <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>	s <sup>2</sup>	q <sub>eq</sub>	K <sub>2</sub> .10 <sup>4</sup>	R <sup>2</sup>	s <sup>2</sup>
(°C)	(mg.g <sup>-1</sup> )	(mg.g <sup>-1</sup> )	(min <sup>-1</sup> )			(mg.g <sup>-1</sup> )	(g.mg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )		
Metronidazol									
10	24,0	24,0±0,3	2,6±0,1	0,9994	0,05	26,9±1,4	1,2±0,2	0,9894	0,8
20	23,4	23,4±0,3	3,8±0,1	0,9991	0,07	25,5±1,5	1,9±0,5	0,9802	1,4
30	24,5	24,4±0,1	4,5±0,1	0,9998	0,02	26,4±1,3	2,3±0,5	0,9838	1,2
Sulfametoxazol									
10	26,9	26,7±0,3	2,3±0,1	0,9993	0,07	29,8±1,1	0,9±0,1	0,9949	0,5
20	25,8	25,7±0,2	3,0±0,1	0,9997	0,03	28,3±1,4	1,3±0,3	0,9879	1,1
30	27,5	27,4±0,2	3,5±0,1	0,9997	0,04	29,8±1,3	1,5±0,5	0,9874	1,3

As cinéticas mais lentas são naturalmente observadas para a temperatura de 10 °C com o equilíbrio a estabelecer-se até às 48 h, sendo que ao fim de um período de 24 h de contacto 95 % da quantidade adsorvida no equilíbrio esteja já atingida. Para os ensaios a 20 e 30 °C o equilíbrio ocorre até às 24 h (com 99 % da quantidade adsorvida no equilíbrio).

O modelo de pseudo-1ª ordem, à semelhança do que ocorre com os resultados obtidos em função do pH, é o que melhor descreve os dados experimentais (maiores coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>), menor variância (s<sup>2</sup>), maior proximidade entre q<sub>eq</sub> estimado e q<sub>eq</sub> experimental. A melhor qualidade de ajuste do modelo de pseudo-1ª ordem é também confirmada através da análise das variâncias residuais dos modelos (estatisticamente significativa para o nível de confiança 95 %, Anexo C).



**Figura 26** Efeito da temperatura na cinética de remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b): Modelos de pseudo-1ª e 2ª ordem.

#### 4.2.4 Resultados da Avaliação da Resistência Externa e Interna - Modelos de Difusão

Ajustaram-se aos resultados experimentais os modelos de transferência de massa que consideram a resistência à difusão externa e interna (equações 7 e 10) com o objetivo de estimar os parâmetros  $D$  e  $k_f$ . Nas Tabelas 26 e 27 estão reunidos os parâmetros relativos a cada ajuste, respectivos coeficientes de determinação e variância. A adequação de ambos os modelos na representação dos dados experimentais é bastante razoável, como se pode verificar através dos coeficientes de determinação

**Tabela 26** Parâmetros de ajuste dos modelos de difusão interna (MDHS) e externa obtidos para diferentes valores de pH.

pH	Difusão interna - MDHS			Difusão externa		
	$D \cdot 10^{11}$ ( $m^2 \cdot min^{-1}$ )	$R^2$	$S^2$	$k_f \cdot 10^3$ ( $m \cdot min^{-1}$ )	$R^2$	$S^2$
<b>Metronidazol</b>						
2	5,7±1	0,9929	8,3E-05	2,8±0,6	0,9903	1,3E-03
6	9,0±0,9	0,9977	3,3E-05	3,8±0,4	0,9983	4,2E-04
8	9,0±0,8	0,9964	6,7E-05	3,9±0,2	0,9997	1,1E-04
<b>Sulfametoxazol</b>						
2	5,5±0,3	0,9997	4,7E-06	1,8±1,4	0,8991	7,5E-03
6	7,0±1	0,9827	2,5E-04	3,1±0,3	0,9984	2,7E-04
8	4,8±1	0,9982	1,8E-05	3,1±0,1	0,9998	3,1E-05

Contudo, as estimativas obtidas para os parâmetros  $k_f$  e  $D$  deverão ser consideradas com alguma reserva, uma vez que foram obtidas considerando apenas os dados iniciais das curvas cinéticas. Tendo em conta esta limitação, é contudo possível estabelecer uma análise comparativa.

**Tabela 27** Parâmetros de ajuste dos modelos de difusão interna (MDHS) e externa obtidos para diferentes temperaturas.

T (°C)	Difusão interna - MDHS			Difusão externa		
	$D \cdot 10^{11}$ ( $\text{m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$ )	$R^2$	$s^2$	$K_f \cdot 10^3$ ( $\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$ )	$R^2$	$s^2$
<b>Metronidazol</b>						
10	5,6±1	0,9782	2,5E-04	2,6±0,1	0,9999	6,3E-06
20	9,0±0,9	0,9977	3,3E-05	3,8±0,4	0,9983	4,2E-04
30	10±1	0,9976	5,4E-05	5,1±0,1	1,000	3,7E-06
<b>Sulfametoxazol</b>						
10	4,0±0,9	0,9986	1,2E-05	2,9±0,1	1,000	5,9E-07
20	7,0±1	0,9827	2,5E-04	3,1±0,3	0,9984	2,7E-04
30	8,6±1	0,9976	4,2E-05	3,7±0,7	0,9937	1,9E-03

Os coeficientes de difusão interna (intraparticular – o modelo MDHS não distingue entre difusão efetiva nos poros e difusão superficial) são, para as condições estudadas, da ordem de grandeza de  $10^{-11}$  a  $10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$ .

Valores de coeficiente de difusão efetiva nos poros, compreendidos entre  $5,1 \times 10^{-11}$  e  $7,2 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$  (a pH 7 e 25 °C) foram recentemente reportados para o antibiótico Metronidazol [215]. Valores superiores, compreendidos entre  $9,3 \times 10^{-9}$  e  $1,2 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$ , são também referenciados num outro estudo (a pH 7 e 25 °C) para o mesmo antibiótico [321]. Todavia, os valores esperados para os coeficientes de difusão não poderão ser superiores aos valores estimados para a difusividade molecular dos solutos em solução aquosa que, no caso dos dois antibióticos, assumirá valores da ordem de grandeza de  $10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$ , de acordo com a equação de Wilke e Chang [215,321,327].

Os maiores coeficientes são observados, tal como era expectável, para o antibiótico que apresenta menores dimensões (ver Tabela 9). De acordo com o esperado, está também a relação entre a temperatura e os valores de coeficiente de difusão, isto é, um aumento na temperatura traduz-se numa maior difusividade (Tabela 27) [315,324-326].

A influência do pH na cinética é também patente nos coeficientes de difusão e de forma semelhante à observada para as constantes de velocidade dos modelos de reação. Os valores mais baixos observam-se a pH 2 para Metronidazol, para o qual a forma catiónica predomina em solução e a pH 8 para Sulfametoxazol,



condições para as quais o antibiótico está totalmente ionizado (espécie aniônica em solução). Os maiores valores são observados para condições de pH em torno do ponto de carga zero (pH 6), sendo que para Metronidazol, a difusividade calculada a pH 6 e 8 - condições de pH para as quais apenas a forma neutra ou molecular do antibiótico se encontra em solução - não apresenta diferenças.

No que respeita à avaliação da resistência externa à transferência de massa, verifica-se que esta diminui com o aumento da temperatura uma vez que a mobilidade molecular/iônica aumenta, tendo, portanto, como consequência, um aumento na difusão no filme externo que rodeia as partículas de adsorvente.

O efeito do pH neste parâmetro é também notório sendo mais significativo para o antibiótico de maiores dimensões, Sulfametoxazol. Em todo o caso, o comportamento é semelhante para ambos os antibióticos. É para as condições de pH mais ácidas que se regista a maior resistência, não se observando diferenças nos ensaios realizados a pH 6 e 8. Os resultados parecem, uma vez mais, espelhar a própria especiação dos solutos e o seu efeito na difusão das espécies em solução. Nos ensaios realizados a pH 2, ambos os antibióticos estão protonados, representando a forma catiónica ~ 80 % e 42 %, respetivamente para Metronidazol e Sulfametoxazol, em contraste os ensaios a pH 6 e 8 caracterizam-se por, no caso de Metronidazol, estar em solução a forma neutra e pelo predomínio da espécie aniônica para Sulfametoxazol.

Não sendo os resultados obtidos suficientes para tirar conclusões sobre a importância relativa de cada um dos mecanismos de difusão externa e interna para a cinética global, é contudo interessante verificar a influência do pH nestes dois mecanismos e na sua ação. Comparando os resultados obtidos a pH 6 e 8, constata-se que para o antibiótico Metronidazol a importância das etapas de difusão externa e interna na cinética não é modificada pela alteração nas condições de pH do meio, os parâmetros  $k_f$  e  $D$  mantêm-se inalterados. No entanto, para Sulfametoxazol, os dados sugerem que a alteração no pH influencia a cinética via mecanismo de difusão interna. Operando a pH 6 ou 8 não parece ter influência na resistência externa, os valores obtidos para  $K_f$  são semelhantes, mas exerce influência no mecanismo de difusão interna, como se constata olhando para os valores obtidos para a difusividade  $D$ .

#### 4.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE ALGUNS PARÂMETROS NA ADSORÇÃO

Os fatores que afetam a extensão da adsorção prendem-se com as propriedades intrínsecas do par adsorvente/adsorvato, mas esta pode ser fortemente influenciada pelas condições operacionais: temperatura, pH, força iónica, presença de outras espécies em solução, velocidade de agitação, tempo de contacto e concentração de adsorvato e adsorvente. O emprego eficiente de um adsorvente implica que as condições de operação sejam tais que seja possível atingir a capacidade máxima ou que pelo menos o tempo de contacto seja suficiente para permitir atingir o equilíbrio. Desta forma, procurou avaliar-se, recorrendo à experimentação fatorial, a influência das variáveis de operação pH e temperatura, assim como da concentração inicial de antibiótico na extensão da adsorção.

### 4.3.1 Plano Fatorial *Box-Behnken*

A metodologia de planeamento fatorial ou desenho experimental (DOE - *Design of Experiments*) é correntemente utilizada com o objetivo de avaliar de uma forma sistemática as variáveis independentes ou de controlo que afetam uma ou mais variáveis dependentes ou de resposta [328,329]. Diversas estratégias têm sido desenvolvidas e empregues ao longo do tempo, sendo a metodologia de superfície de resposta (RSM - *Response Surface Methodology*) uma das mais comuns. Esta técnica tem como objetivo procurar a resposta ótima dentro da gama especificada para as variáveis independentes, também designadas por fatores, recorrendo para o efeito ao ajuste de um polinómio de segunda ordem que consiga prever, com sucesso, a relação entre as variáveis dependentes e independentes [328,329].

De entre os desenhos mais frequentemente utilizados, no âmbito da metodologia de superfície de resposta, optou-se, neste estudo, pelo arranjo de *Box-Behnken*. Os valores atribuídos para cada nível das variáveis independentes consideradas, pH, temperatura e concentração inicial estão descritos na Tabela 28.

**Tabela 28** Valores, reais e codificados, adotados para os fatores pH, temperatura e concentração inicial.

Fatores	Fatores Codificados	Nível		
		-1	0	1
pH	X <sub>1</sub>	2	5	8
T (°C)	X <sub>2</sub>	10	20	30
C <sub>in</sub> (mg/L)	X <sub>3</sub>	20	30	40

Na análise dos resultados procurou-se identificar, com recurso ao *software JMP 5.0.1*, o modelo que melhor relaciona as variáveis independentes e de resposta, sendo inicialmente considerado o modelo quadrático completo (Equação 12)<sup>2</sup> e posteriormente avaliada a possibilidade ou necessidade de excluir efeitos ou interações (modelos quadráticos reduzidos).

$$\hat{y} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2$$

**Equação 12**

<sup>2</sup>  $\hat{y}$  é a resposta prevista pelo modelo ( $q_{mod}$ );  $x_1$ ,  $x_2$  e  $x_3$  são, respetivamente, os fatores pH, temperatura (T) e concentração inicial de antibiótico ( $C_{in}$ ). Os coeficientes da regressão são:

$\beta_0$  termo relativo à intercepção;  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$  são os coeficientes para os efeitos lineares;

$\beta_{12}$ ,  $\beta_{13}$  e  $\beta_{23}$  representam os coeficientes relativos aos efeitos de interação entre os fatores;

$\beta_{11}$ ,  $\beta_{22}$  e  $\beta_{33}$  representam os coeficientes para o efeito quadrático.

#### 4.3.1.1 Análise dos Resultados - Ensaios Box-Behnken

Encontram-se reunidos na Tabela 29 as condições experimentais do desenho, os resultados obtidos ( $q_{exp}$ ) e previstos pelo modelo quadrático ( $q_{mod}$ ). O desenho selecionado implicou a realização de 12 ensaios em triplicado e 6 pontos centrais, num total de 42 ensaios para cada um dos antibióticos.

**Tabela 29** Desenho Experimental *Box-Behnken* – condições experimentais, resultados obtidos ( $q_{exp}$ ) e previstos pelo modelo ( $q_{mod}$ ).

Ensaios	Fatores			Metronidazol		Sulfametoxazol	
	pH $X_1$	T (°C) $X_2$	$C_{in}$ (mg/L) $X_3$	$q_{exp}$ (mg/g)	$q_{mod}$ (mg/g)	$q_{exp}$ (mg/g)	$q_{mod}$ (mg/g)
1	2	10	30	38,6	34,5	57,2	57,8
				35,2		54,9	
				33,8		54,3	
2	2	20	20	38,0	35,4	63,0	62,3
				33,2		60,3	
				39,3		65,7	
3	2	20	40	47,0	47,0	81,2	76,6
				43,5		73,3	
				45,4		79,0	
4	2	30	30	50,7	47,9	87,0	80,4
				43,4		79,3	
				46,3		75,8	
5	5	10	20	72,7	72,4	68,9	69,7
				66,4		70,9	
				73,8		69,9	
6	5	10	40	82,8	84,7	73,9	67,7
				80,9		69,7	
				95,6		67,5	
7	5	20	30	92,7	85,2	90,4	92,2
				81,5		94,2	
				80,8		97,0	
8	5	30	20	92,5	75,4	90,9	76,1
				88,7		98,7	
				76,1		81,9	
9	5	30	40	69,0	108,4	73,2	106,5
				73,9		73,4	
				77,6		73,7	
10	8	10	30	105,8	91,6	100,6	66,1
				108,1		115,5	
				115,2		102,8	
11	8	20	20	98,0	81,5	63,1	70,7
				90,0		64,9	
				91,6		68,8	
12	8	20	40	79,3	115,1	76,1	84,9
				74,7		70,3	
				85,5		70,7	
13	8	30	30	103,7	105,0	78,5	88,7
				112,7		83,9	
				114,1		81,3	
				107,1		85,8	
				110,0		94,9	
				112,4		93,1	

Foi efetuado um primeiro ajuste matemático dos dados experimentais ao modelo quadrático completo e os resultados destes ajustes estão reunidos no Anexo F. Este ajuste preliminar permitiu avaliar de entre os efeitos previstos pelo modelo (Equação 12) quais os significativos. Em função dos resultados obtidos foram apenas mantidos nos modelos os termos significativos e novos ajustes foram realizados com base nos modelos quadráticos reduzidos. A qualidade dos modelos ajustados foi avaliada por recurso aos coeficientes de determinação, análise dos resíduos e da variância (ANOVA) e teste de falta de ajuste (*lack-of-fit test*). Informação mais pormenorizada, relativa aos resultados dos ajustes e respetiva validação, foi remetida para o Anexo F. Os parâmetros dos modelos quadráticos reduzidos, obtidos para cada um dos antibióticos estão reunidos na Tabela 30.

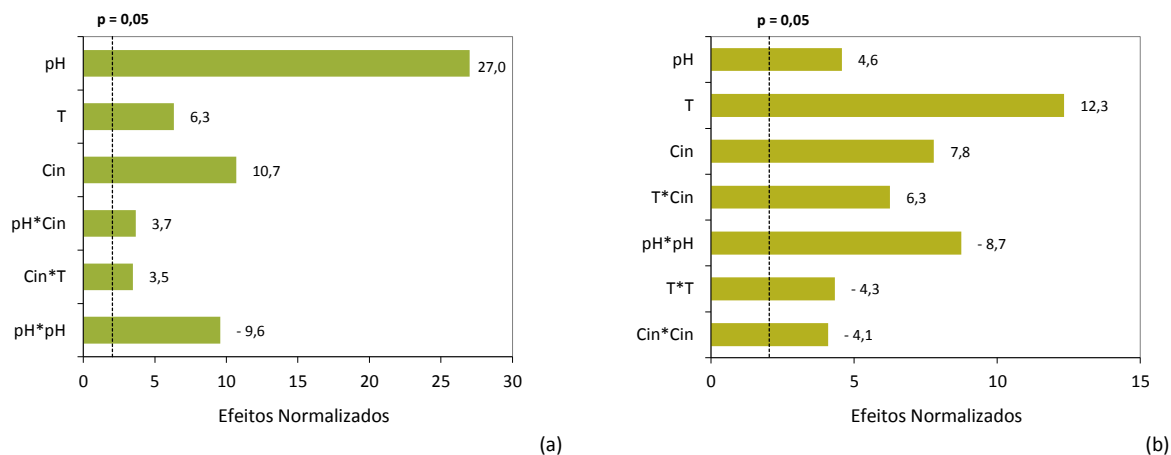
**Tabela 30** Parâmetros obtidos para os modelos quadráticos reduzidos ajustados aos sistemas em estudo.

	Metronidazol		Sulfametoxazol	
	Coeficiente	<i>p-value</i>	Coeficiente	<i>p-value</i>
$\beta_0$	85,2±2,5	3,6E-39	92,2±3,7	1,6E-33
$\beta_1$	28,6±2,2	5,0E-25	4,2±1,9	6,2E-05
$\beta_2$	6,7±2,2	2,8E-07	11,3±1,9	4,2E-14
$\beta_3$	11,3±2,2	1,4E-12	7,1±1,9	4,6E-09
$\beta_{12}$	n.s. <sup>1</sup>		n.s.	
$\beta_{13}$	5,5±3,0	8,3E-04	n.s.	
$\beta_{23}$	5,2±3,0	1,4E-03	8,1±2,6	4,0E-07
$\beta_{11}$	-15,5±3,3	2,6E-11	-12,7±2,9	3,2E-10
$\beta_{22}$	n.s.		-6,3±2,9	1,3E-04
$\beta_{33}$	n.s.		-5,9±2,9	2,5E-04
$R^2$	0,9662		0,9137	
Falta de ajuste	0,22		0,25	
<i>p-value</i>				

<sup>1</sup> Termos não significativos do modelo matemático

Os modelos quadráticos obtidos apresentam coeficientes de determinação superiores a 91 % e os testes de falta de ajuste (análise *lack-of-fit test*) indicam que os modelos são adequados (*p-value* ≥ 0,05). A análise de variância confirmou a significância dos ajustes e as respetivas análises aos resíduos indicaram também comportamentos adequados.

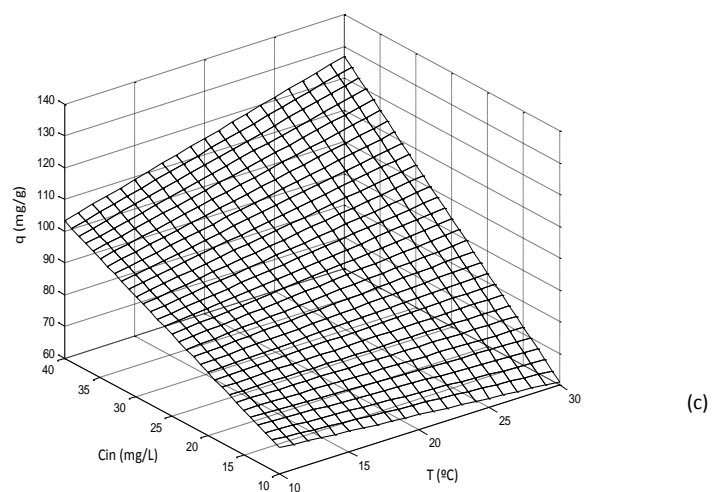
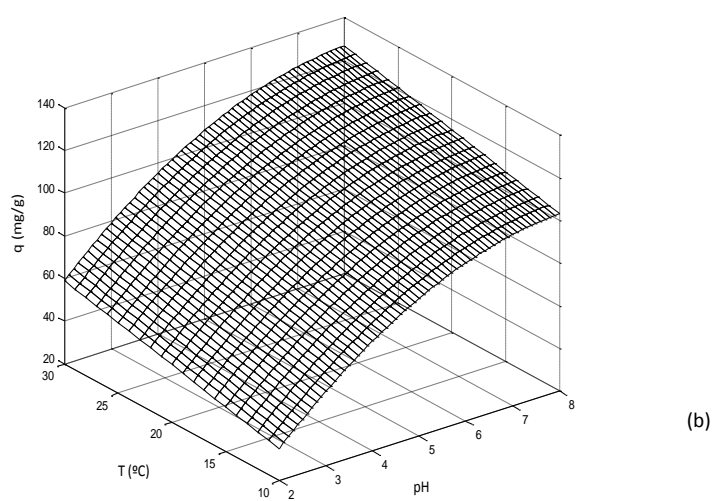
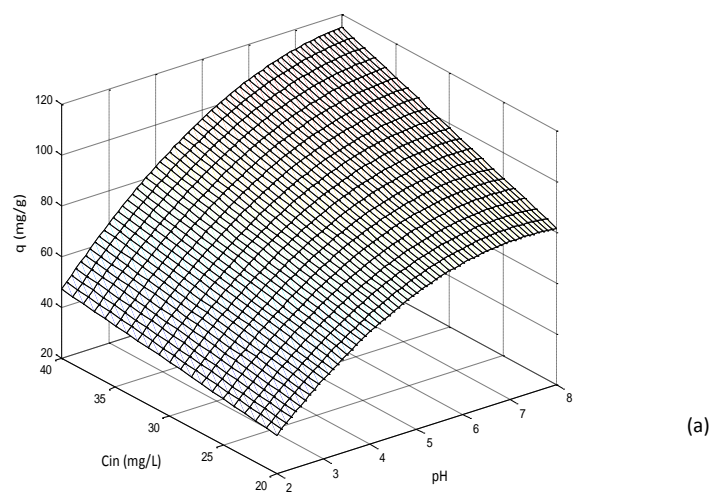
Os valores previstos pelos modelos para as respostas variam de 34,5 a 115,1 mg/g e 57,8 a 106,7 mg/g para o Metronidazol e para o Sulfametoxazol, respetivamente (Tabela 29). A variação observada para a resposta é, na região em estudo, mais expressiva para o antibiótico Metronidazol. Os gráficos de Pareto, reunidos na Figura 27, permitem avaliar, de uma forma mais fácil, os parâmetros dos modelos que maior influência exercem nas respostas (variáveis dependentes -  $q_{exp}$ ).



**Figura 27** Gráficos de Pareto para (a) Metronidazol e (b) Sulfametoxazol. (A linha vertical (a tracejada) representa o nível de confiança (95 %); todos os efeitos à direita da linha são significativos)

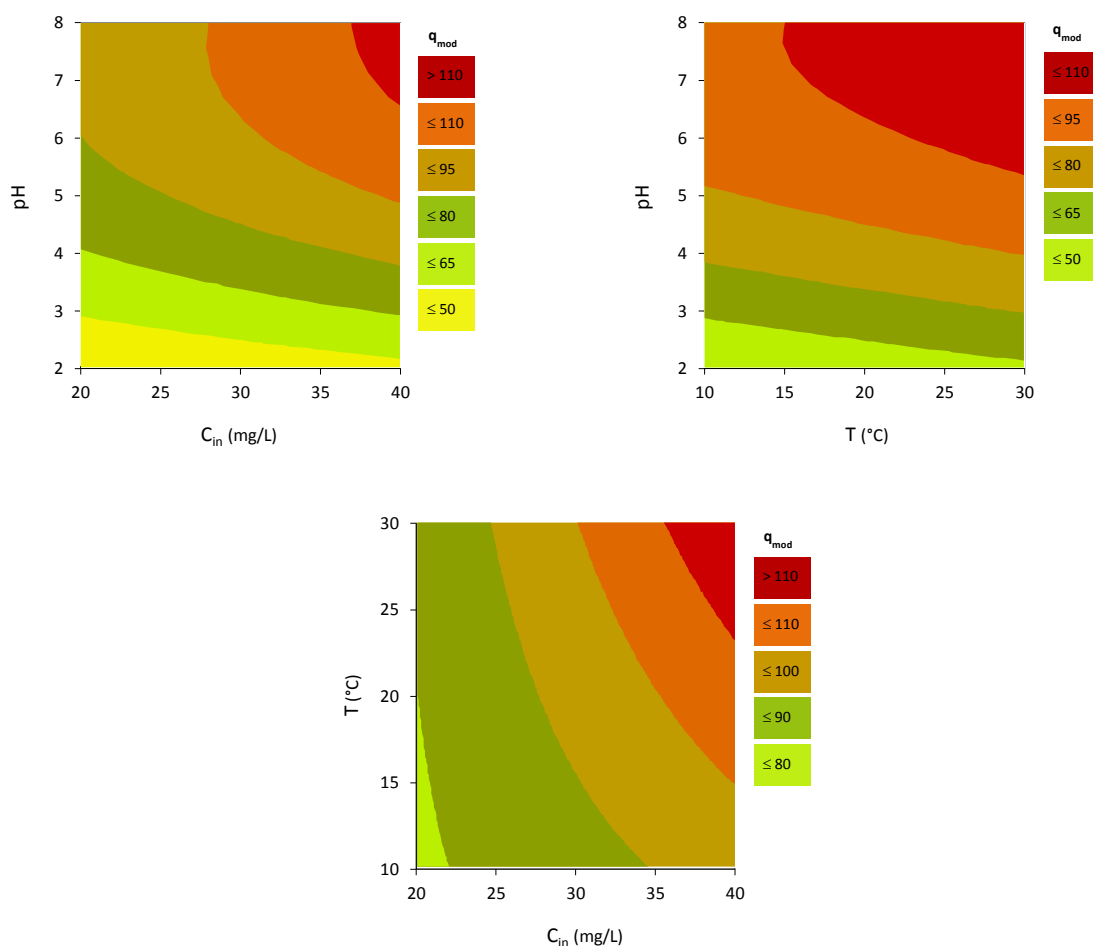
Os termos lineares são, para as três variáveis independentes pH, T e  $C_{in}$ , significativos para ambos os modelos. Apenas o efeito quadrático do pH afeta a resposta observada para o antibiótico Metronidazol. Em contrapartida, todos os termos quadráticos são significativos no modelo ajustado aos dados obtidos para Sulfametoxazol. O pH (efeito linear) é, destacadamente, no caso do antibiótico Metronidazol o parâmetro que maior influência exerceu na quantidade adsorvida. A temperatura (efeito linear) é, no caso do antibiótico Sulfametoxazol, o parâmetro que maior influência exerceu na resposta.

Nas Figuras 28 e 29, podem ser observadas as superfícies de resposta obtidas e as correspondentes curvas de nível que permitem complementar/ampliar a análise dos dados. Os resultados relativos à adsorção do antibiótico Metronidazol (Figura 28) demonstram, inequivocamente, que as condições que permitem maximizar a resposta coincidem com os níveis máximos atribuídos aos fatores. O valor previsto para a quantidade adsorvida é, nestas condições (pH = 8,  $C_{in}$  = 40 mg/L, T = 30°C), de 127 mg/g. É interessante destacar, em particular, o comportamento da resposta em função do pH e da temperatura. O aumento destes dois parâmetros traduziu-se sempre num aumento da capacidade de adsorção. Não sendo, por isso, possível falar em condições ótimas dentro da gama estudada, valores superiores de temperatura e em particular de pH poderão ter como consequência remoções superiores mas são, no entanto, condições de operação menos prováveis ou praticáveis. A realização de ensaios adicionais não foi por esse facto considerada. A importância do pH torna-se mais evidente quando, por exemplo, fixando a T a 20 °C e considerando a concentração máxima, se prevê uma variação na capacidade de adsorção de 47 mg/g até 115 mg/g para uma variação de pH compreendida entre 2 e 8 (Figura 28 e Figura 29).



**Figura 28** Superfícies de resposta para o antibiótico Metronidazol: (a) efeito da concentração vs. pH a 20 °C; (b) efeito da temperatura vs. pH para  $C_{in} = 40$  mg/L; (c) efeito da concentração vs. temperatura para pH = 6.

Esta variação vai naturalmente diminuindo à medida que o pH aumenta sendo que para valores pH iguais ou superiores a 6 a capacidade de adsorção assume valores superiores a 105 mg/g. O modelo prevê, para uma variação de 2 unidades no valor de pH (de 6 para 8), um aumento de aproximadamente 10 mg na capacidade de adsorção (“patamar” observado na Figura 28). A influência da temperatura, tal como já foi constatado através dos coeficientes para os termos do modelo, é menos expressiva. Uma variação de 94 para 118 mg/g é prevista para a capacidade de adsorção quando ocorre uma variação na temperatura na gama dos 10 aos 30 °C (fixando o pH a 6, Figura 28 e Figura 29).



**Figura 29** Gráficos de contorno para o modelo quadrático ajustado aos dados experimentais obtidos para o antibiótico Metronidazol.

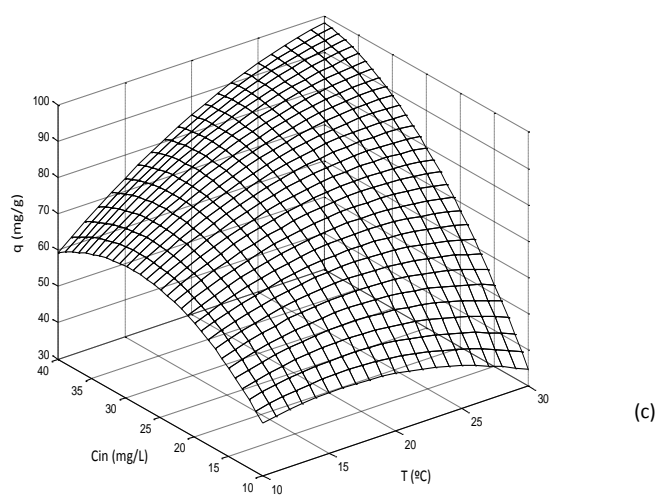
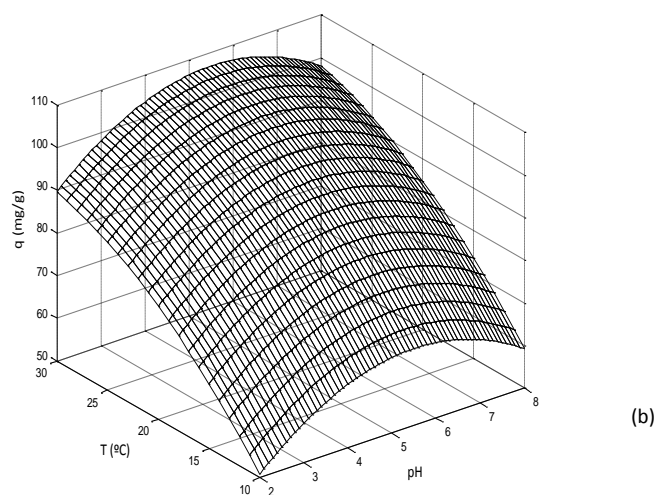
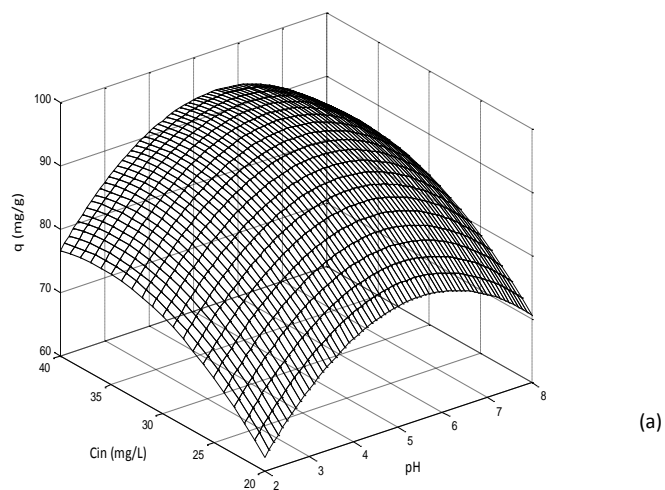
Para o antibiótico Sulfametoxazol o modelo prevê como melhores condições, isto é, as condições que maximizam a resposta dentro da gama de variação escolhida para os fatores, o valor de pH de 5,5, temperatura de 30 °C e concentração de 40 mg/L. Para estas condições de operação, o valor previsto para a resposta é de 106,9 mg/g. Quer pela observação dos resultados presentes na Tabela 29 ou mais facilmente através dos gráficos de superfície e de nível, constata-se que a resposta aumenta com o aumento da temperatura (na gama de 10 a 30 °C) e da concentração inicial (na gama de 20 a 40 mg/L). Reúnem-se, na Figura 30 e na Figura 31, as superfícies de resposta e gráficos de contorno obtidos para o modelo quadrático reduzido ajustado aos dados experimentais.

A influência da temperatura na capacidade de adsorção deste antibiótico é, na gama estudada, um pouco mais expressiva do que a observada para o pH. O modelo prevê, a pH 6 e considerando a concentração máxima inicial, (Figura 30 e Figura 31) uma variação compreendida entre 67,7 e 106,5 mg/g para um aumento da temperatura na gama dos 10 aos 30 °C.

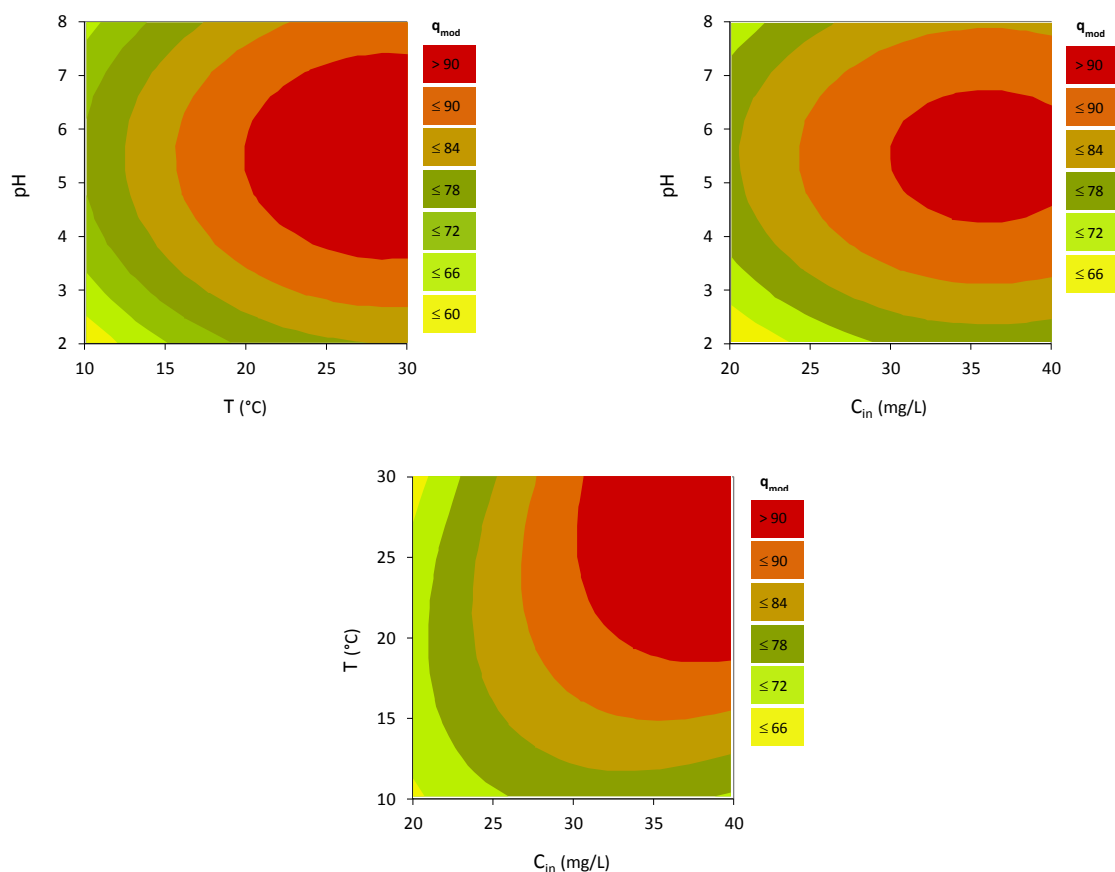
À semelhança do que já tinha sido observado para o antibiótico Metronidazol, os valores que maximizam a resposta, para os parâmetros temperatura e concentração inicial, coincidem com os máximos fixados para estas variáveis. Estas são, por isso, condições que maximizam a resposta mas não necessariamente as condições ótimas e é provável que valores superiores possam ser atingidos. Esta confirmação implicaria a realização de um novo conjunto de ensaios onde se deveriam considerar, em particular, temperaturas superiores às testadas, mas que não se afiguram, do ponto de vista prático, particularmente pertinentes.

Comportamento diferente é observado para o parâmetro pH. O valor ótimo está claramente dentro da faixa de variação estipulada e é interessante verificar a existência de uma gama de valores para a qual a capacidade de adsorção assume valores muito próximos. As Figura 30 e Figura 31 ilustram este comportamento. É perceptível a existência de um “patamar “ (curvatura da superfície de resposta ou última curva de nível  $q_{mod} > 90$  mg/g – facilmente identificado no gráfico de nível ou contorno) para o qual uma variação de pH compreendida aproximadamente entre 4,6 e 7,2 provocará na resposta ( $q_{mod}$ ) uma variação compreendida entre 90 a 94 mg/g, isto é de ~ 4mg/g, (fixando a temperatura a 20 °C). Comportamento semelhante é observado para os ensaios a 10 e 30 °C. A adsorção de Sulfametoxazol apresenta muito distintamente uma faixa de pH para a qual a capacidade de adsorção se mantém quase independente deste parâmetro.





**Figura 30** Superfícies de resposta para o antibiótico Sulfametoxazol: (a) efeito da concentração vs. pH a 20 °C; (b) efeito da temperatura vs. pH para  $C_{in} = 40$  mg/L; (c) efeito da concentração vs. temperatura a pH = 6.



**Figura 31** Gráficos de contorno para o modelo quadrático ajustado aos dados experimentais obtidos para o antibiótico Sulfametoxazol.

Com os dados, quer dos ensaios preliminares, quer dos resultados da experimentação fatorial, que permitem avaliar não só o grau de influência dos parâmetros mas também procurar estabelecer as condições de otimização do sistema, observa-se uma capacidade máxima superior a 100 mg/g para ambos os antibióticos (127 mg/g para Metronidazol, 107 mg/g para Sulfametoxazol – valores previstos pelos modelos), em todo o caso, valores próximos entre si. Dos fatores avaliados, destaca-se o pH. Os resultados evidenciam a sua influência na quantidade adsorvida, para ambos os antibióticos, mas as gamas de valores de pH que maximizam as respostas são distintas. Enquanto a remoção de Metronidazol é favorecida por valores crescentes de pH, coincidindo o valor máximo com o limite superior do domínio de estudo (pH 8), em contraste, Sulfametoxazol apresenta um valor máximo em torno de 5,5, verificando uma diminuição na extensão da adsorção à medida que o pH aumenta.

Para valores de pH em torno de  $pH_{pCZ}$ , isto é valores ~6, os modelos prevêem para Metronidazol, fixando a concentração em 40 mg/L e a 20°C, uma capacidade de 106 mg/g e para Sulfametoxazol uma capacidade de 94 mg/g. Estes resultados vão ao encontro dos observados nos ensaios preliminares. Em condições experimentais semelhantes (concentração em 40 mg/L e a 20°C), registaram-se para Metronidazol e Sulfametoxazol, capacidades de adsorção (médias) de 110 mg/g e 101 mg/g, respetivamente, nos ensaios realizados a pH 6.

#### 4.4 ISOTÉRMICAS DE EQUILÍBRIO MONOCOMPONENTE

Os dados de equilíbrio são normalmente traduzidos por meio de isotérmicas de adsorção de que os modelos de Langmuir e Freundlich constituem dois dos exemplos mais comuns [317,322,330]. As isotérmicas representam, deste modo, uma informação experimental essencial na avaliação do desempenho do adsorvente ao permitirem estimar a respetiva capacidade de adsorção, que depende, como já foi referido, de vários parâmetros.

Diversos modelos matemáticos, quer de natureza teórica, quer empírica, têm sido empregues na descrição do equilíbrio de adsorção [317,330-332]. No âmbito deste trabalho, selecionaram-se, para ajuste aos dados experimentais, os modelos de Langmuir, Freundlich, Langmuir-Freundlich e Redlich-Peterson. Apresenta-se, na Tabela 31, uma breve descrição destes modelos.

**Tabela 31** Modelos considerados na representação das isotérmicas de equilíbrio de adsorção.

Modelo	Parâmetros	Características
<b>Modelo de Langmuir</b>  $q_{eq} = \frac{Q_L K_L C_{eq}}{1 + K_L C_{eq}}$	$Q_L$ - capacidade máxima (mg/g) $K_L$ - constante de Langmuir (L/mg)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cada centro ativo, da superfície, só pode acomodar uma espécie</li> <li>• As espécies estão ligadas à superfície em locais fixos - não há mobilidade</li> <li>• A adsorção máxima ocorre para a saturação da monocamada</li> <li>• A adsorção é energeticamente idêntica em todos os centros ativos</li> <li>• Não há interação entre as espécies adsorvidas</li> </ul>
<b>Modelo de Freundlich</b>  $q_{eq} = K_F C_{eq}^{1/n_F}$	$K_F$ - constante de Freundlich, indicativa capacidade de adsorção ( $\text{mg}^{1-1/n_F} \text{g}^{-1} \text{L}^{1/n_F}$ ) $n_F$ - constante relacionada com a intensidade de adsorção	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Modelo de base empírica</li> <li>• Adsorção em superfícies heterogéneas</li> <li>• Interação entre espécies adsorvidas</li> <li>• <math>n_F &gt; 1</math> isotérmica favorável</li> <li>• <math>n_F &lt; 1</math> isotérmica desfavorável</li> <li>• <math>n_F = 1</math> isotérmica linear</li> </ul>
<b>Modelo de Langmuir-Freundlich</b>  $q_{eq} = \frac{Q_{LF} K_{LF} C_{eq}^{n_{LF}}}{1 + K_{LF} C_{eq}^{n_{LF}}}$	$Q_{LF}$ - capacidade máxima (mg/g) $K_{LF}$ - constante de Langmuir-Freundlich ( $\text{mg}^{-1/n_{LF}} \text{L}^{1/n_{LF}}$ ) $n_{LF}$ - parâmetro empírico adimensional	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Relação empírica</li> <li>• Combinação dos modelos de Langmuir e Freundlich</li> <li>• <math>n_{LF} = 1</math> modelo de Langmuir</li> </ul>
<b>Modelo de Redlich-Peterson</b>  $q_{eq} = \frac{K_{RP} C_{eq}}{1 + a_{RP} C_{eq}^{\beta_{RP}}}$	$K_{RP}$ - constante ( $\text{L g}^{-1}$ ) $a$ - constante ( $\text{L g}^{-1}$ ) <sup><math>\beta</math></sup> $\beta$ - parâmetro, $0 < \beta < 1$	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Relação empírica</li> <li>• Relaciona os modelos de Langmuir e de Freundlich</li> <li>• <math>\beta = 1</math> modelo de Langmuir</li> <li>• <math>\beta = 0</math> isotérmica linear</li> <li>• <math>a_{RP} C_{eq}^{\beta_{RP}} \gg 1</math> modelo Freundlich</li> </ul>

A obtenção dos parâmetros de cada modelo foi realizada através de ajustes não-lineares (com recurso ao programa *JMP 5.0.1* e à função *Solver* do *Excel*). A adequação dos modelos aos dados experimentais foi avaliada com base nos coeficientes de determinação e respetivos resíduos/variância. A comparação entre modelos foi realizada por meio do *Teste-F*, para um nível de confiança de 95 %. Encontra-se no Anexo C informação mais detalhada sobre os ajustes e respetiva validação. A análise dos dados de equilíbrio, por ajuste aos modelos selecionados, está representada na Figura 32 (dados experimentais e respetivas curvas de ajuste). Os parâmetros relativos a cada ajuste estão reunidos nas Tabelas 32 e 33.

**Tabela 32** Parâmetros dos modelos de Langmuir e Freundlich para os dados de equilíbrio obtidos a pH 6 e 20 °C.

	Langmuir				Freundlich			
	$Q_L$	$K_L$	$R^2$	$s^2$	$K_F$	$n_F$	$R^2$	$s^2$
	(mg/g)	(L/mg)			$(\text{mg}^{1-1/n_F} \text{g}^{-1} \text{L}^{1/n_F})$			
Metro	107,4±4,9	2,6±0,7	0,9799	51,9	60,8±5,2	4,5±0,7	0,9296	138
Sulfa	93,5±3,8	22,2±5,6	0,9724	51,4	65,0±6,7	5,5±1,2	0,8394	267

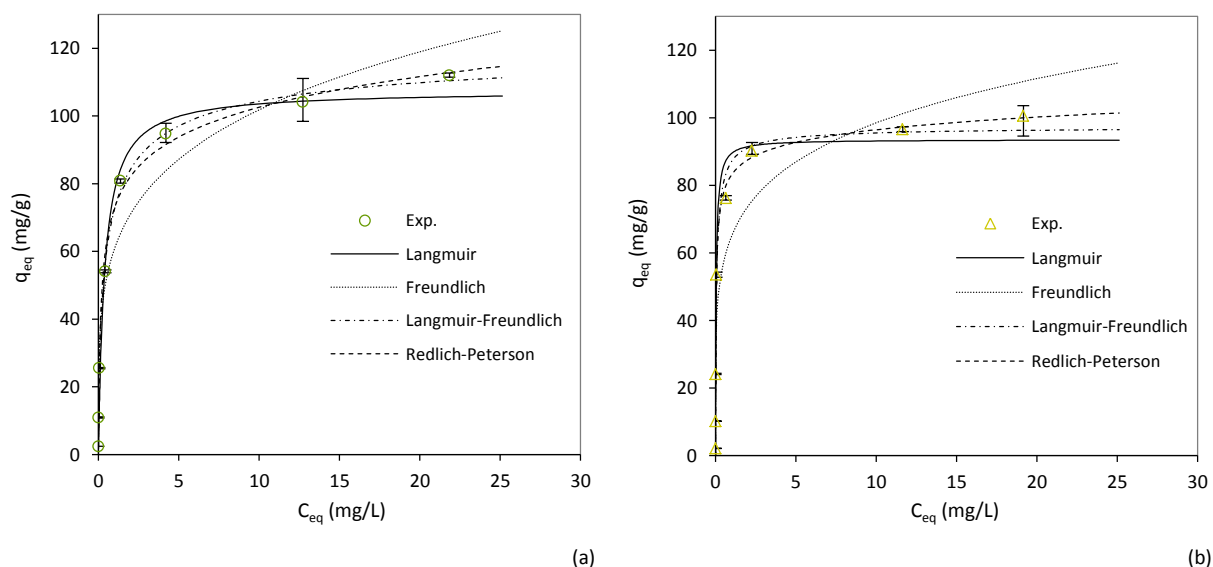
Começando por analisar o desempenho dos modelos constata-se que modelo de Freundlich apresenta, para ambos os antibióticos, os maiores desvios na representação dos dados experimentais, como pode ser observado quer pelos parâmetros que constam nas Tabelas (menores coeficientes de determinação, maior variância residual) quer por inspeção visual da qualidade dos ajustes. Os resultados apresentados no Anexo C permitem ainda verificar que é para este modelo que se observam as maiores diferenças entre os valores obtidos pelos ajustes ( $q_{\text{mod.}}$ ) para as capacidades de adsorção no equilíbrio e os valores experimentais ( $q_{\text{exp.}}$ ). Contudo, quando comparado, com base no *Teste-F* (para um nível de confiança de 95 %), com os restantes modelos, nem sempre a diferença é estatisticamente significativa (Anexo G).

**Tabela 33** Parâmetros dos modelos de Langmuir-Freundlich e Redlich-Peterson para os dados de equilíbrio obtidos a pH 6 e a 20 °C.

	Langmuir-Freundlich					Redlich-Peterson				
	$Q_{LF}$	$K_{LF}$	$n_{LF}$	$R^2$	$s^2$	$K_{RP}$	$a$	$\beta$	$R^2$	$s^2$
	(mg/g)	$(\text{mg}^{-1/n_{LF}} \text{L}^{1/n_{LF}})$				$(\text{L g}^{-1})$	$(\text{L g}^{-1})^\beta$			
Metro	122,2±5,5	1,5±0,2	0,6±0,1	0,9966	9,1	831,0±275,7	10,4±3,9	0,89±0,02	0,9929	19,6
Sulfa	97,5±5,6	8,3±5,6	0,8±0,2	0,9760	51,3	2742,6±729,0	32,0±9,5	0,95±0,02	0,9860	29,9

Para os restantes modelos, (Langmuir, Langmuir-Freundlich e Redlich-Peterson) as diferenças observadas na qualidade dos ajustes não são estatisticamente significativas (Anexo G). Verifica-se, no entanto, para o antibiótico Metronidazol que os modelos de Langmuir-Freundlich e Redlich-Peterson apresentam os melhores índices de desempenho que se traduzem em coeficientes de determinação superiores a 0,99 e inferiores variâncias residuais, mas cuja diferença, como já foi referido, não é estatisticamente significativa, quando comparada com a observada para o modelo de Langmuir.

Para o antibiótico Sulfametoxazol, o modelo de Redlich-Peterson apresenta melhores parâmetros de desempenho mas a menor variância residual deste modelo não é estatisticamente diferente das restantes, à exceção da obtida para o modelo de Freundlich (Anexo G). O que também é confirmado pelos valores que o parâmetro  $\beta$  assume (próximos da unidade), que são indicativos de uma representação preferencial dos dados de equilíbrio pelo modelo de Langmuir, para os dois antibióticos. Pelos motivos expostos, far-se-á a análise dos resultados com base neste modelo.



**Figura 32** Isotérmicas de equilíbrio de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) a pH 6 e 20 °C.

A análise aos dados de equilíbrio confirmam o que os estudos precedentes (ensaios preliminares e de otimização) já indicavam, isto é, maior capacidade de remoção para o antibiótico Metronidazol. Não sendo a diferença expressiva, prevê-se, no entanto, uma capacidade máxima de 107,4 mg/g para Metronidazol face a 93,5 mg/g para Sulfametoxazol. Em contraste, os dados indicam uma afinidade, do adsorvente, significativamente superior para o antibiótico Sulfametoxazol, como pode ser constatado pelos valores obtidos para a constante de Langmuir. A maior afinidade é também evidente na representação gráfica dos respetivos ajustes, refletindo-se na acentuada inclinação da tangente à isotérmica quando a concentração de equilíbrio tende para zero. Esta é uma característica importante pois evidencia uma remoção efetiva para baixas concentrações iniciais.

Capacidades de sorção compreendidas entre 46 e 241 mg/g (pH 6 e 25 °C), para carvões ativados comerciais, foram recentemente reportadas para a remoção de Metronidazol [313]. Para Sulfametoxazol, a pH 6, foram observadas capacidades de sorção de 11 e 25 mg/g em carvão ativado comercial [308].

A capacidade de adsorção está dependente da natureza do carvão ativado (características texturais/morfológicas e químicas), e dos solutos (solubilidade, hidrofobicidade, grupos funcionais e dimensões moleculares). Sendo expectável que menor solubilidade e/ou maior hidrofobicidade se traduzam em maior afinidade para a matriz sólida e conduzam a maiores capacidades de remoção, observam-se, frequentemente, tendências contraditórias quando se usam estes parâmetros na análise da remoção de diversos fármacos.

A natureza dos grupos funcionais dos solutos, ao afetar a densidade eletrônica do anel aromático/heterocíclico, influenciam as interações entre a matriz do adsorvente e constituem outro parâmetro a considerar. A interpretação das diferenças de afinidades dos solutos tem constituído, por estas razões, uma matéria complexa.

Como já foi referenciado na secção 4.1, o pH desempenha uma forte influência na especiação, solubilidade e hidrofobicidade dos dois antibióticos. A pH 6, Metronidazol encontra-se em solução apenas na sua forma neutra, registando o valor mais baixo para a solubilidade e o mais elevado para a hidrofobicidade, contrariamente Sulfametoxazol, por causa da sua especiação (a pH 6 a forma aniónica representa ~72 % e a neutra ~28 %) é mais solúvel e muito menos hidrófoba.

Contudo, os resultados sugerem que as diferenças observadas, na remoção dos dois antibióticos, não residirá nas interações de natureza hidrófoba, mas estará provavelmente relacionado com as dimensões dos antibióticos.

Metronidazol é uma molécula de menores dimensões e planar, Sulfametoxazol, para além de possuir maiores dimensões, apresenta três ângulos de torção, sendo o mais significativo o que ocorre em torno do eixo de ligação estabelecido pelo grupo – SO<sub>2</sub> e que contribui para que os dois anéis não estejam no mesmo plano.

Para compostos orgânicos possuindo anéis de natureza aromática, a adsorção ocorre, preferencialmente, com uma orientação paralela à superfície do plano basal. Esta orientação aumenta a superfície de contacto entre os anéis aromáticos maximizando as interações. A maior dimensão de Sulfametoxazol e particularmente a sua não planaridade poderão justificar a menor capacidade de adsorção apesar da maior afinidade que possui para a superfície do carvão ativado.

#### 4.5 ISOTÉRMICAS DE EQUILÍBRIO BICOMPONENTE

Os estudos das secções anteriores evidenciaram a influência do pH na capacidade de remoção de ambos os antibióticos. Sendo certo que as gamas de valores de pH que maximizam as respostas não coincidem (a remoção de Metronidazol é favorecida por valores crescentes de pH, coincidindo o valor máximo com o limite superior do domínio de estudo (pH 8) e para Sulfametoxazol o máximo ocorrerá em torno de 5,5, verificando uma diminuição na extensão da adsorção à medida que o pH aumenta), os modelos obtidos indicam que para valores em torno do  $pH_{pCZ}$  até pH 8 a variação na extensão da remoção não é muito expressiva. Os resultados sugerem que valores de pH em torno de  $pH_{pCZ}$ , isto é valores ~6, podem representar um bom compromisso para a remoção destes antibióticos. Contudo, os resultados obtidos em sistema monocomponente não permitem, geralmente, estabelecer previsões para o comportamento em sistema multicomponente, o que justifica o estudo que se apresenta nesta secção.

#### 4.5.1 Modelos de Equilíbrio/Modelação Matemática

Os dados de equilíbrio multicomponente podem ser descritos por vários modelos que se podem classificar em dois tipos: modelos preditivos ou modelos de correlação [333-338]. A abordagem mais simples consiste em aplicar os parâmetros das isotérmicas obtidas em sistema monocomponente na previsão dos dados de equilíbrio em sistemas multicomponente (modelos expandidos não modificados). As limitações destes modelos em representarem adequadamente, de um modo geral, os dados experimentais conduziram à introdução, nestes, de parâmetros/fatores de interação ( $\eta_i$ ) estimados a partir dos dados multicomponente [333-335,337,339,340]. Estes modelos podem ser classificados como semi-correlativos, uma vez que recorrem à utilização simultânea dos parâmetros monocomponente e multicomponente (modelos expandidos modificados). Em alternativa, o equilíbrio multicomponente pode ainda ser descrito recorrendo exclusivamente aos parâmetros obtidos por ajuste dos dados experimentais de equilíbrio do sistema multicomponente (modelos expandidos) [333,334,338,340,341]. Esta última abordagem permite, de um modo geral, obter descrições mais adequadas dos dados de equilíbrio em sistemas multicomponente [334,338,341].

A obtenção dos parâmetros de cada modelo foi realizada através de ajustes não-lineares (com recurso ao programa *JMP 5.0.1* e à função *Solver* do *Excel*). A adequação dos modelos aos dados experimentais foi avaliada com base nos coeficientes de determinação, resíduos e variância. A comparação entre modelos foi realizada por meio do *Teste-F* para um nível de confiança de 95%. Encontra-se, no Anexo G, informação mais detalhada sobre os ajustes e respetiva validação. Resumem-se na tabela 34 os modelos selecionados para descrever o equilíbrio bicomponente em estudo.

#### 4.5.2 Ensaios de Equilíbrio Bicomponente

Os modelos de equilíbrio monocomponente, Langmuir e Langmuir-Freundlich, foram ajustados aos dados experimentais em sistema mono e bicomponente (Tabela 35). Não se verifica diferença estatisticamente significativa entre os modelos (nível de confiança de 95 %), à exceção do ajuste em sistema monocomponente para o antibiótico Metronidazol e Sufametoxazol bicomponente, para os quais o modelo de Langmuir-Freundlich apresenta um desempenho superior (Anexo G). Os parâmetros obtidos, para ambos os modelos e sistemas (mono e bicomponente), são essenciais para compreender os efeitos da presença simultânea dos dois antibióticos na capacidade de sorção e são simultaneamente necessários na aplicação dos modelos multicomponente.

**Tabela 34** Modelos considerados na representação das isotérmicas de equilíbrio de adsorção em sistemas bicomponente.

Modelo	Características
<p>Modelo de Langmuir Expandido (não modificado)</p> $q_{eq,i} = \frac{q_{m,i} K_{L,i} C_{e,i}}{1 + \sum_{j=1}^N K_{L,j} C_{e,j}}$	Modelo de previsão que utiliza exclusivamente os parâmetros das isotérmicas de sorção individual de cada componente ( $q_{m,i}$ e $K_{L,i}$ ) para prever os dados de equilíbrio multicomponente. Representa apenas uma extensão do modelo monocomponente de Langmuir.
<p>Modelo de Redlich-Peterson Expandido (não modificado)</p> $q_{eq,i} = \frac{q_{RP,i} K_{L,i} C_{e,i}}{1 + \sum_{j=1}^N a_{R,j} C_{e,j}^{\beta_j}}$	Modelo de previsão que utiliza exclusivamente os parâmetros das isotérmicas de sorção individual de cada componente ( $q_{RP,i}$ , $K_{RP,i}$ , $a_{RP,j}$ e $\beta_j$ ) para prever os dados de equilíbrio multicomponente. Representa apenas uma extensão do modelo monocomponente de Redlich-Peterson.
<p>Modelo de Langmuir-Freundlich Expandido (não modificado)</p> $q_{eq,i} = \frac{q_{m,i} K_{LF,i} C_{e,i}^{n_{LF}}}{1 + \sum_{j=1}^N K_{LF,j} C_{e,j}^{n_{LF}}}$	Modelo de previsão que utiliza exclusivamente os parâmetros das isotérmicas de sorção individual de cada componente ( $q_{m,i}$ , $K_{LF,i}$ e $n_{LF}$ ) para prever os dados de equilíbrio multicomponente. Representa apenas uma extensão do modelo monocomponente de Langmuir-Freundlich.
<p>Modelo de Langmuir Modificado</p> $q_{eq,i} = \frac{q_{m,i} K_{L,i} (C_{e,i}/\eta_i)}{1 + \sum_{j=1}^N K_{L,j} (C_{e,j}/\eta_j)}$	Modelo de correlação que incorpora o efeito interativo dos solutos, corrigindo a concentração individual de cada componente pelo fator de interação ( $\eta_i$ ). Trata-se de um modelo mais flexível e representativo da complexidade dos sistemas multicomponente. $Q_{m,i}$ e $K_{L,i}$ são os parâmetros da isotérmica Langmuir obtidos na adsorção individual do componente i. Os fatores de interação são determinados por ajuste aos dados multicomponente.
<p>Modelo de Redlich-Peterson Modificado</p> $q_{eq,i} = \frac{q_{RP,i} K_{RP,i} (C_{e,i}/\eta_{R,i})}{1 + \sum_{j=1}^N a_{RP,j} (C_{e,j}/\eta_{R,j})^{\beta_j}}$	Modelo de correlação que incorpora o efeito interativo dos solutos, corrigindo a concentração individual de cada componente pelo fator de interação ( $\eta_i$ ). Com fatores de interação determinados por ajuste aos dados multicomponente e restantes parâmetros $q_{RP,i}$ , $K_{RP,i}$ , $a_{RP,j}$ e $\beta_j$ obtidos pela sorção individual de cada componente.
<p>Modelo de Langmuir Expandido</p> $q_{eq,i} = \frac{Q_{max} K_{L,i} C_{e,i}}{1 + \sum_{j=1}^N K_{L,j} C_{e,j}}$	É um modelo de correlação exclusivamente baseado em parâmetros ( $Q_{max}$ , $K_{L,i}$ ) determinados pelos dados multicomponente. Assume uniformidade nos centros ativos e que todas as espécies em solução competem para os mesmos sítios.
<p>Modelo Fator P</p> $q_{eq,i} = \frac{1}{P_i} \frac{q_{max,i} K_{L,i} C_{e,i(multi)}}{1 + \sum_{j=1}^N K_{L,j} C_{e,j(multi)}}$ $P_i = \frac{q_{max,i(mono)}}{q_{max,i(multi)}}$	Modelo de correlação que recorre a um fator de capacidade (Fator P) para comparar e correlacionar os dados das isotérmicas monocomponente com os dados das isotérmicas multicomponente. Este modelo segue a isotérmica de Langmuir, em que $q_{max(mono)}$ e $q_{max(multi)}$ representam as capacidades máximas obtidas para o sistema mono e multicomponente, respetivamente.



**Tabela 35** Parâmetros para os modelos Langmuir e Langmuir Freundlich em sistema mono e bicomponente (20 °C, pH 6).

	Langmuir			Langmuir-Freundlich			
	$Q_L$ (mg/g)	$K_L$ (L/mg)	$R^2$	$Q_{LF}$ (mg/g)	$K_{LF}$ ( $\text{mg}^{-n_{LF}} \text{L}^{n_{LF}}$ )	$n_{LF}$	$R^2$
<b>Sistema monocomponente*</b>							
Metro	107,4±4,9	2,6±0,7	0,9799	122,2±5,5	1,5±0,2	0,6±0,1	0,9966
Sulfa	93,5±3,8	22,2±5,6	0,9724	97,5±5,6	8,3±5,6	0,8±0,2	0,9760
<b>Sistema bicomponente</b>							
Metro	51,7±1,0	6,5±0,9	0,9927	51,9±1,3	6,0±2,1	1,0±0,1	0,9928
Sulfa	65,5±8,1	23,5±2,5	0,9736	72,4±1,5	4,0±0,6	0,6±0,1	0,9982

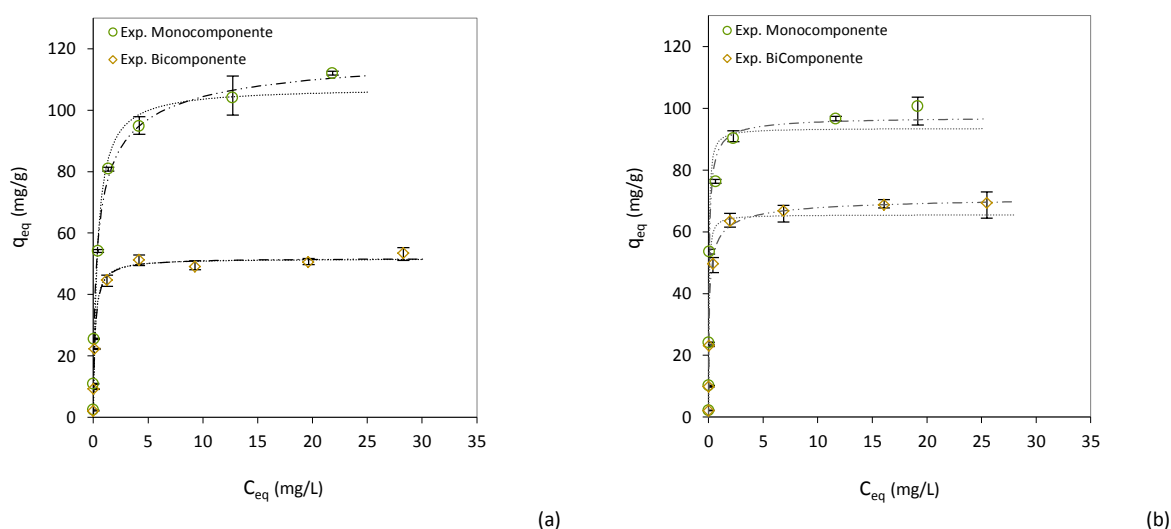
\*Resultados apresentados na secção 4.4

Numa primeira análise, verifica-se que o antibiótico Metronidazol apresenta uma maior redução (superior a 50 %) na capacidade máxima de adsorção em sistema bicomponente em comparação com o valor obtido na ausência de Sulfametoxazol. Estes resultados encontram justificação na maior afinidade do antibiótico Sulfametoxazol para o sorvente, traduzindo-se, consequentemente, numa menor redução na extensão da sorção em sistema bicomponente (~30 %) para este antibiótico.

Em sistemas multicomponente esta é uma das situações mais frequente. A introdução de pelo menos mais uma espécie em solução conduz a uma redução na capacidade de adsorção individual de ambas as espécies [165,342-344]. Situações em que as capacidades se mantêm inalteradas [345] ou registam valores superiores em sistema multicomponente [346,347] são mais incomuns.

A representação gráfica dos dados de equilíbrio (Figura 33), para ambos os sistemas, permite analisar o efeito da concentração na capacidade de adsorção ( $q_{eq}$ ). A redução na capacidade de adsorção é notória, para ambos os antibióticos, mas não se faz sentir para as concentrações mais baixas, como se pode constatar pela sobreposição dos pontos experimentais na zona inicial das isotérmicas. Para as concentrações de 0,5, 2 e 5 mg/L as capacidades de adsorção ( $q_{eq}$ ) são similares às obtidas em sistema monocomponente para ambos os antibióticos. Nesta gama de concentrações os antibióticos são praticamente insensíveis à presença um do outro.

A diferença entre as capacidades de remoção em sistema bi e monocomponente é mais significativa para a gama de concentrações compreendida entre 10 e 40 mg/L e afeta em maior extensão o antibiótico Metronidazol.



**Figura 33** Isotérmicas de equilíbrio previstas pelos modelos monocomponente de Langmuir (—) e Langmuir-Freundlich (---) para o antibiótico Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) em sistema bicomponente.

Os modelos de equilíbrio multicomponente, apresentados na Tabela 34, foram ajustados aos dados experimentais. Os modelos puramente preditivos (apenas baseados nos parâmetros obtidos em sistema monocomponente) não representam adequadamente os dados de equilíbrio bicomponente. Todos os modelos testados sobrestimam a capacidade de sorção para o antibiótico Sulfametoxazol e subestimando simultaneamente a capacidade de sorção para o Metronidazol.

A provável existência de interações entre as espécies e entre estas e a superfície do adsorvente traduz-se normalmente por uma competição pelos sítios ativos que está dependente das características individuais de cada espécie (solubilidade, massa molar, dimensão). Por estas razões, o comportamento de sistemas multicomponente não é, normalmente, corretamente descrito a partir dos parâmetros individuais de adsorção [333,334,345]. A inclusão nos modelos de fatores de interação ( $\eta_i$ ) procura colmatar esta limitação, mas no caso particular em estudo, esta abordagem não conduziu a uma melhoria significativa na qualidade dos ajustes. A complexidade do sistema bicomponente em estudo não é passível de ser adequadamente descrita pelos parâmetros obtidos para os componentes individuais. Os resultados relativos a todos estes ajustes podem ser consultados no Anexo G.

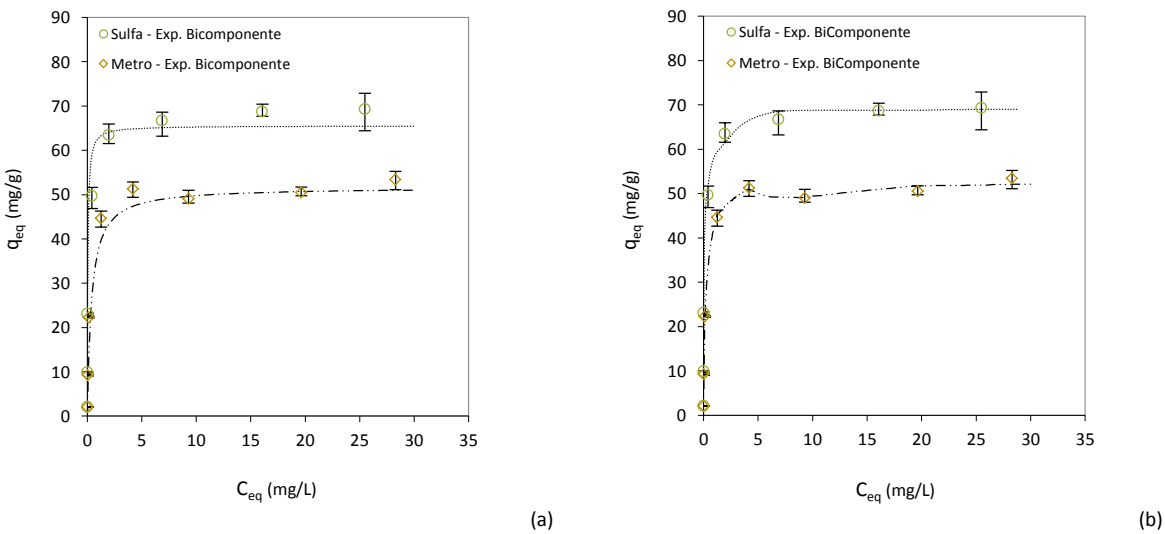
De todos os modelos aplicados, apenas os modelos Fator P e Langmuir-Freundlich Expandido apresentaram parâmetros de desempenho satisfatórios (melhores coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e menores erros padrão - RSME). O modelo de Langmuir Expandido, embora permitindo um melhor ajuste aos dados experimentais, em comparação com os modelos preditivos e de interação, sobrestima, à semelhança destes, capacidade de sorção de Sulfametoxazol subestimando, em simultâneo, a remoção de Metronidazol (Anexo G).

Na Tabela 36, apresentam-se os principais parâmetros de ajuste para os modelos Fator P e Langmuir-Freundlich Expandido. A representação gráfica destes ajustes é traduzida pela figura 34. Os resultados pormenorizados, para ambos os modelos, podem ser consultados no Anexo G.

**Tabela 36** Parâmetros de ajuste e estatísticos para os modelos Fator P e Langmuir-Freundlich Expandido.

Fator P		Langmuir-Freundlich Expandido				
$P_{Metro}$	$P_{Sulfa}$	$Q_{LF}$ (mg/g)	$K_{LF - Metro}$ ( $mg^{-n_{LF}}L^{n_{LF}}$ )	$K_{LF - Sulfa}$ ( $mg^{-n_{LF}}L^{n_{LF}}$ )	$n_{LF - Metro}$	$n_{LF - Sulfa}$
2,08	1,43	123,7	1,4	3,8	0,8	0,6
$R^2 - 0,9645$		$R^2 - 0,9954$				
RSME - 4,7		RSME - 1,9				

Um dos resultados mais interessantes destes ajustes resulta da comparação entre a capacidade total de sorção, prevista pelo modelo de Langmuir-Freundlich,  $Q_{LF}$  (123,7 mg/g) e a maior capacidade de sorção observada em sistema monocomponente (122,2 mg/g para o Metronidazol). Os valores são similares, o que indica que, apesar da existência de competição entre as espécies, no que concerne à capacidade total de sorção, não há evidência de efeitos de inibição.



**Figura 34** Isotérmicas de equilíbrio previstas pelos modelos Fator P (a) e Langmuir-Freundlich Expandido (b).

**4.5.2.1 Ensaios de Equilíbrio Bicomponente - Efeito do pH**

A influência do parâmetro pH foi ainda avaliada para valores de pH de 2, 5 e 8. Na tabela 37, estão reunidos os parâmetros obtidos para os ajustes dos modelos monocomponente (Langmuir e Langmuir-Freundlich) aos dados experimentais de equilíbrio bicomponente (1:1) para os ensaios a pH 2, 5 e 8, realizados a 20 °C. A obtenção dos parâmetros de cada modelo foi realizada através de ajustes não-lineares (com recurso ao

programa *JMP 5.0.1* e à função *Solver* do *Excel*). A adequação dos modelos aos dados experimentais foi avaliada com base nos coeficientes de determinação, resíduos e variância. A comparação entre modelos foi realizada por meio do *Teste-F* para um nível de confiança de 95%. Encontra-se no Anexo G informação mais detalhada sobre os ajustes e respetiva validação.

**Tabela 37** Parâmetros de ajuste dos modelos monocomponente para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol em sistema bicomponente

	Langmuir			Langmuir-Freundlich			
	$Q_L$ (mg/g)	$K_L$ (L/mg)	$R^2$	$Q_{LF}$ (mg/g)	$K_{LF}$ ( $\text{mg}^{-n_{LF}} \text{L}^{n_{LF}}$ )	$n_{LF}$	$R^2$
<b>Metronidazol</b>							
pH 2	17,9±0,8	0,5±0,1	0,9848	18,8±1,9	0,8±0,2	0,6±0,1	0,9853
pH 5	44,1±1,1	7,5±2,1	0,9913	45,1±2,0	4,6±2,8	0,9±0,2	0,9922
pH 8	72,3±4,6	2,4±1,0	0,9641	83,8±7,6	1,2±0,4	0,6±0,1	0,9902
<b>Sulfametoxazol</b>							
pH 2	59,3±0,9	2,6±0,3	0,9971	59,7±1,6	2,5±0,4	0,95±0,12	0,9972
pH 5	65,7±2,4	12,1±4,9	0,9891	67,9±0,7	6,6±0,7	0,65±0,03	0,9996
pH 8	39,5±0,7	3,8±0,5	0,9955	40,0±1,3	3,3±0,9	0,87±0,19	0,9956

A adsorção dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol é bem representada por ambos os modelos. Para Metronidazol a maior diferença ocorre no ajuste a pH 8 para o qual o modelo de Langmuir-Freundlich apresenta melhores índices de desempenho (maior coeficiente de determinação, menor variância residual e erro padrão). No entanto, a diferença não é estatisticamente significativa. Enquanto, para Sulfametoxazol o modelo de Langmuir-Freundlich apresenta uma menor variância residual com significância estatística para os ensaios realizados a pH 5. A influência do pH na remoção é acentuada. E, à semelhança do que já tinha sido discutido anteriormente, o aumento do pH traduz-se num aumento da capacidade de remoção, para Metronidazol, enquanto Sulfametoxazol regista uma diminuição (atendendo aos ensaios a pH 5, 8).

Para os valores de pH avaliados, a especiação dos antibióticos regista, como já foi discutido, alterações significativas e a capacidade de remoção reflete essa variação. A pH 2, a forma catiónica de Metronidazol irá predominar em solução (~80%), diminuindo à medida que o pH aumenta, sendo que para valores de pH 7 e 8 apenas se encontra em solução a forma neutra. Não é surpreendente, portanto, que a menor eficiência de remoção ocorra a pH 2, pois são condições para as quais a superfície do adsorvente apresenta maior densidade de cargas positivas ( $\text{pH}_{\text{solução}} < \text{pH}_{\text{pcz}}$ ) e a espécie catiónica predomina em solução – as repulsões eletrostáticas serão máximas. À medida que o pH aumenta, a repulsão eletrostática diminui, observando-se um aumento na remoção do antibiótico. Quando comparados os valores obtidos, para a capacidade de remoção, nos ensaios preliminares (concentração inicial 40 mg/L e temperatura 20°C) com os valores obtidos para as capacidades

máximas (modelo de Langmuir), constata-se que há redução desta em sistema bicomponente para toda a gama de pH avaliada. A magnitude da redução vai contudo diminuindo à medida que o pH aumenta.

Para o antibiótico Sulfametoxazol, a variação na especiação é mais expressiva. Dependendo do valor de pH do meio, este fármaco poderá encontrar-se, quer sua forma neutra e/ou ionizada (positiva ou negativamente) e os resultados obtidos parecem refletir a variabilidade da especiação deste composto – à semelhança do que já tinha sido discutido na secção 4.1. A melhor eficiência de remoção é obtida a pH 5. Nestas condições a forma neutra predomina em solução com ~80% (com a forma aniónica a corresponder a ~20%). À semelhança de Metronidazol, também para Sulfametoxazol se observa uma redução da sorção em sistema bicomponente - por comparação com as capacidades de remoção observadas nos ensaios preliminares - mas a magnitude da redução vai aumentando à medida que o pH aumenta.

A capacidade de remoção registada, em sistema bicomponente, a pH 5 e 6 apresentam-se quase coincidentes, para Sulfametoxazol. Para pH 6, tinha sido obtida uma capacidade máxima de 65,5 mg/g (tabela 35), os dados sugerem que valores de pH em torno do ponto de carga zero maximizam a remoção deste fármaco em sistema bicomponente, à semelhança do observado em sistema monocomponente.

Apresentam-se na tabela 38 os resultados dos ajustes obtidos para os modelos expandidos de Langmuir e Langmuir-Freundlich aos dados de equilíbrio bicomponente para as isotérmicas a pH 2, 5 e 8.

**Tabela 38** Parâmetros de ajuste dos modelos Langmuir Expandido e Langmuir-Freundlich Expandido para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol em sistema bicomponente

pH	Langmuir Expandido			Langmuir-Freundlich Expandido				
	$Q_L$ (mg/g)	$K_L$ - Metro (L/mg)	$K_L$ - Sulfa (L/mg)	$Q_{LF}$ (mg/g)	$K_{LF}$ - Metro ( $\text{mg}^{-n_{LF}} \text{L}^{n_{LF}}$ )	$K_{LF}$ - Sulfa ( $\text{mg}^{-n_{LF}} \text{L}^{n_{LF}}$ )	$n_{LF}$ - Metro	$n_{LF}$ - Sulfa
2	69,5	0,2	2,5	77,0	1,6	1,9	0,05	0,9
	$R^2$	0,9079				$R^2$	0,9952	
5	101,4	2,7	8,6	114,0	1,0	4,1	0,9	0,6
	$R^2$	0,8464				$R^2$	0,9908	
8	107,9	2,8	0,9	123,7	1,1	0,5	0,6	0,6
	$R^2$	0,9572				$R^2$	0,9798	

O modelo de Langmuir-Freundlich representa bem os dados experimentais, o que é confirmado pela observação dos parâmetros de desempenho estatístico, com coeficientes de determinação superiores a 0,97 e erros padrão significativamente inferiores aos registados para o modelo de Langmuir. O modelo de Langmuir Expandido apresenta desvios consideráveis entre os valores experimentais e os valores previstos, não representando adequadamente os dados experimentais. De um modo geral, este modelo prevê para o antibiótico Metronidazol valores de sorção inferiores aos observados à excepção do ajuste aos dados obtidos

nos ensaios a pH 8. Em contrapartida, para o antibiótico Sulfametoxazol, as capacidades de sorção são sobrestimadas, em particular para as concentrações de equilíbrio mais elevadas (Anexo G). O modelo de Langmuir-Freundlich Expandido apresenta os menores desvios entre os valores experimentais e ajustados para ambos os antibióticos, o que é também confirmado pelos coeficientes de determinação e erros padrão (Anexo G).

#### 4.5.3 Avaliação do efeito de alguns parâmetros na adsorção em sistema bicomponente

Com o objetivo de avaliar a influência das variáveis pH e concentração na capacidade de adsorção dos antibióticos em sistema bicomponente, recorreu-se ao desenho experimental composto e centrado (CCD – Central Composite Design). Procurou-se, com esta técnica estatística e com recurso à Metodologia de Superfície de Resposta (RSM – *Response Surface Methodology*), estabelecer um modelo que relacione a variável de resposta ( $q_{\text{exp}}$ ) com os fatores, avaliar quais fatores e interações que são significativos e determinar os valores que otimizam a(s) resposta(s) ou dar indicação sobre a sua provável localização. Os valores atribuídos para cada nível das variáveis de controlo consideradas estão descritos na Tabela 39.

**Tabela 39** Valores assumidos para os níveis no desenho experimental CCD.

Fatores	Fatores Codificados	Nível		
		-1	0	1
pH	$X_1$	2	5	8
$C_{\text{in}}$ (mg/L)	$X_2$	10	25	40

A análise dos resultados compreendeu duas etapas consecutivas e independentes. Na primeira etapa procurou-se identificar o modelo que melhor relaciona as variáveis independentes e de resposta sendo inicialmente considerado o modelo quadrático completo (Equação 13)<sup>3</sup> e posteriormente avaliada a possibilidade ou necessidade de excluir efeitos ou interações (modelos quadráticos reduzidos). A segunda etapa visou encontrar o ponto ótimo global recorrendo-se para o efeito à função desejabilidade (*Desirability*). Ambas a etapas foram realizadas com o auxílio do *software JMP 5.0.1*.

$$\hat{y} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 \quad \text{Equação 13}$$

<sup>3</sup>  $\hat{y}$  é a resposta prevista pelo modelo ( $q_{\text{mod}}$ );  $x_1$  e  $x_2$  são, respetivamente, os fatores pH e concentração inicial de antibiótico ( $C_{\text{in}}$ ).

Os coeficientes da regressão são:  $\beta_0$  termo relativo à intercepção;  $\beta_1$  e  $\beta_2$  são os coeficientes para os efeitos lineares;

$\beta_{12}$  o coeficiente relativo ao efeito de interação entre os fatores e  $\beta_{11}$  e  $\beta_{22}$  representam os coeficientes para o efeito quadrático.

#### 4.5.3.1 Análise dos Resultados - Ensaios Central Composite Design

Encontram-se reunidos na Tabela 40 as condições experimentais do desenho, os resultados obtidos ( $q_{exp}$ ) e previstos pelo modelo quadrático ( $q_{mod}$ ).

**Tabela 40** Planeamento fatorial CCD – condições experimentais, resultados obtidos ( $q_{exp}$ ) e previstos pelo modelo ( $q_{mod}$ ).

Ensaios	Fatores		Metronidazol		Sulfametoxazol	
	pH	$C_{in}$ (mg/L)	$q_{exp}$	$q_{mod}$	$q_{exp}$	$q_{mod}$
	$X_1$	$X_2$	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
1	2	10	<b>12,4</b>	13,5	46,5	44,1
2	2	10	14,3	13,5	43,1	44,1
3	2	25	16,2	18,7	56,0	55,1
4	2	25	16,5	18,7	53,8	55,1
5	2	40	16,6	14,5	55,8	59,1
6	2	40	17,4	14,5	61,3	59,1
7	5	10	40,9	34,7	53,7	55,9
8	5	10	34,5	34,7	53,9	55,9
9	5	25	41,5	45,7	67,0	64,8
10	5	25	48,4	45,7	66,2	64,8
11	5	40	43,6	47,4	<b>68,1</b>	66,7
12	5	40	46,8	47,4	66,0	66,7
13	8	10	46,9	48,9	36,9	33,7
14	8	10	45,2	48,9	<b>33,3</b>	33,7
15	8	25	70,5	65,7	38,6	40,6
16	8	25	67,1	65,7	39,4	40,6
17	8	40	70,1	73,0	40,8	40,4
18	8	40	<b>75,4</b>	73,0	40,3	40,4

Assinalam-se a negrito os valores mínimos e máximos para as capacidades de adsorção experimentais

Foi efetuado um primeiro ajuste matemático dos dados experimentais ao modelo quadrático completo e os resultados destes ajustes estão reunidos na Tabela 41. Para aferir da validade do modelo na representação dos resultados experimentais, foram calculados os coeficientes de determinação. Efetuou-se uma análise aos resíduos do modelo e à variância (ANOVA) e executou-se o teste de falta de ajuste (*lack-of-fit test*). Informação mais pormenorizada relativa aos resultados dos ajustes e respetiva validação foi remetida para o Anexo H.

**Tabela 41** Parâmetros obtidos para os modelos quadráticos ajustados aos sistemas em estudo.

	Metronidazol		Sulfametoxazol	
	Coeficiente	<i>p-value</i>	Coeficiente	<i>p-value</i>
$\beta_0$	45,7 $\pm$ 4,2	1,9E-11	64,8 $\pm$ 2,5	7,4E-16
$\beta_1$	23,5 $\pm$ 2,3	4,0E-11	-7,3 $\pm$ 1,4	8,6E-8
$\beta_2$	6,3 $\pm$ 2,3	6,4E-4	5,4 $\pm$ 1,4	2,1E-6
$\beta_{12}$	5,8 $\pm$ 2,8	7,8E-4	-2,1 $\pm$ 1,7	0,021
$\beta_{11}$	-3,6 $\pm$ 4,0	<b>0,074<sup>1</sup></b>	-17,0 $\pm$ 2,4	2,9E-9
$\beta_{22}$	-4,7 $\pm$ 4,4	0,025	-3,5 $\pm$ 2,4	7,7E-3
$R^2$	0,9791		0,9744	
Falta de ajuste	0,059		0,14	
<i>p-value</i>				

<sup>1</sup>A negrito destaca-se o termo não significativo do modelo matemático

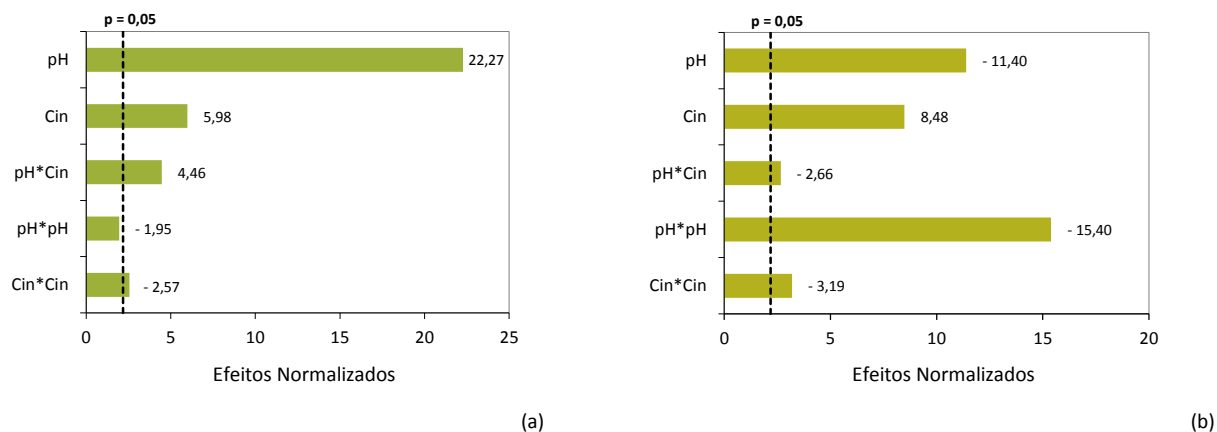
Os modelos quadráticos completos obtidos para as variáveis podem ser considerados bons modelos matemáticos uma vez que possuem coeficientes de determinação superiores a 97 % e os testes de falta de ajuste (análise *lack-of-fit test*) indicam que os modelos são adequados (*p-value*  $\geq$  0,05).

A análise de variância confirmou a significância dos modelos/regressão e as respectivas análises aos resíduos indicaram também comportamentos adequados - distribuição normal e sem relação com o valor das respostas (ver Anexo H).

Os resultados obtidos para a adsorção do antibiótico Sulfametoxazol, indicam que todos os termos incluídos no modelo quadrático completo são estatisticamente significativos (*p-value*  $\leq$  0,05). Para o antibiótico Metronidazol, o modelo quadrático global apresenta um termo ligeiramente não significativo (efeito quadrático do pH - assinalado a negrito na Tabela 41). Optou-se no entanto por manter este termo no modelo, uma vez que o modelo quadrático reduzido resultante da sua remoção não apresenta um impacto significativo na qualidade do ajuste (ver Anexo H) e também para manter a hierarquia [328].

Os diagramas de Pareto (Figura 35) permitem ilustrar os resultados da Tabela 41 relativos ao teste de significância estatística dos coeficientes que integram o modelo quadrático completo.

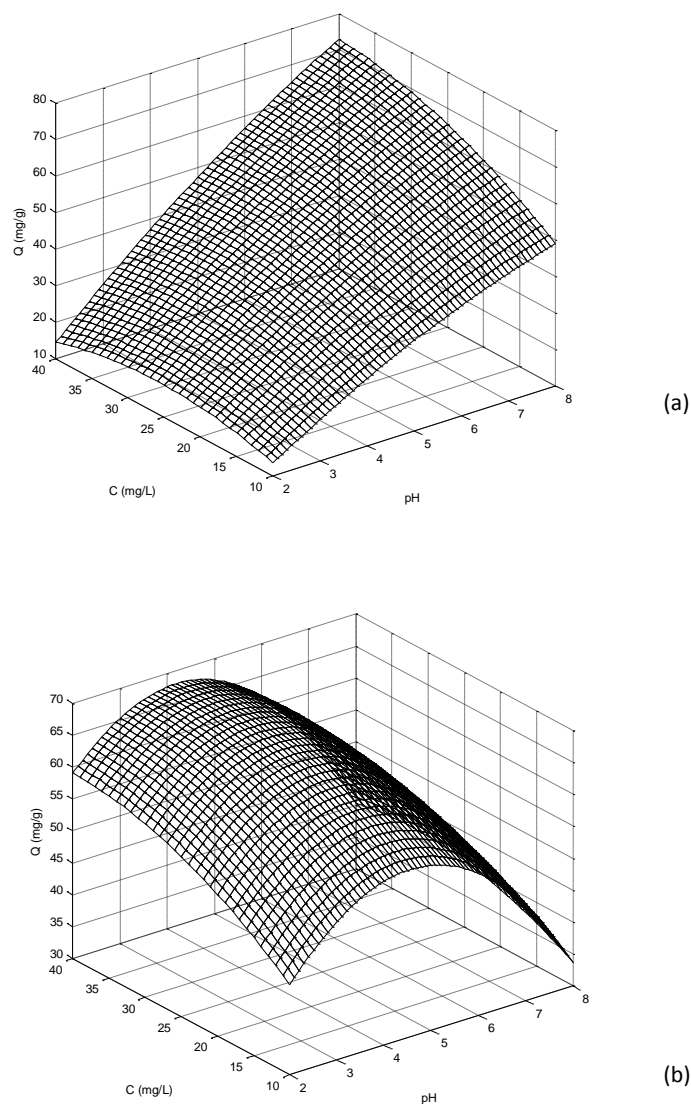




**Figura 35** Gráficos de Pareto para (a) Metronidazol e (b) Sulfametoxazol. (A linha vertical (a tracejado) representa o nível de confiança (95 %); todos os efeitos à direita da linha são significativos).

O pH é, em ambos os casos, o fator que mais afeta a quantidade adsorvida, o que está de acordo com o que já tinha sido referido na secção (análise da adsorção em sistema monocomponente). Constata-se, igualmente em concordância com os resultados obtidos em sistema monocomponente, que o seu efeito na adsorção dos antibióticos em estudo é oposto.

No caso do antibiótico Sulfametoxazol, é o efeito quadrático que mais afeta a quantidade adsorvida, verificando-se que quanto maior o seu valor, menor a quantidade removida. Em contraste, é o efeito linear que mais afeta a remoção do antibiótico Metronidazol e, tal como esperado, o efeito é de sinal contrário ao observado para o antibiótico Sulfametoxazol. Este resultado demonstra o conflito existente entre as variáveis de resposta na determinação de um ponto ótimo comum do sistema. A determinação de um valor de pH ótimo para a remoção destes antibióticos será inevitavelmente resultante de uma solução de compromisso. Na Figura 36 podem ser observadas as superfícies de resposta geradas para os modelos quadráticos completos.



**Figura 36** Superfícies de resposta para o antibiótico Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b).

Os valores previstos para as quantidades adsorvidas encontram-se compreendidos 13,5 e 73,0 mg/g e 33,7 e 64,8 mg/g para o antibiótico Metronidazol e Sulfametoxazol, respetivamente. Estes valores estão em concordância com as isotérmicas de equilíbrio apresentadas na secção 4.5.2, quer no que está relacionado com a sua magnitude, quer com o efeito do pH na remoção.

#### 4.5.3.2 Otimização Simultânea - Função Desejabilidade

O principal interesse deste estudo consistiu em procurar encontrar os valores de operação ótimos, em particular para o parâmetro pH, que satisfaçam simultaneamente as duas variáveis de resposta (capacidade de

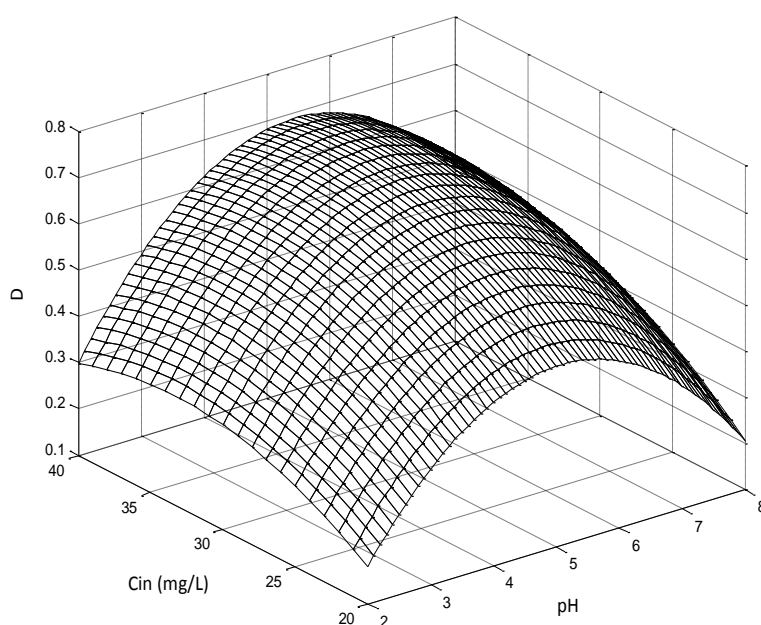
adsorção para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol). Recorreu-se à função desejabilidade (*Desirability*) disponibilizada pelo *software JMP 5.0.1*. Esta abordagem consiste em transformar as equações que modelam cada uma das respostas em funções individuais, procedendo-se à otimização de uma função global (D – desejabilidade global) que é descrita em termos das funções individuais, transformando-se a otimização simultânea de várias respostas na otimização de uma única função ( $0 \leq D \leq 1$ ) [329].

**Tabela 42** Resumo de alguns dos valores gerados para as respostas e índice global D.

Fatores		Metronidazol	Sulfametoxazol	Desejabilidade Global
pH	C <sub>in</sub> (mg/L)	Q <sub>mod</sub> (mg/g)	Q <sub>mod</sub> (mg/g)	
<b>2,0</b>	<b>10,0</b>	<b>13,5</b>	<b>44,1</b>	<b>0,19</b>
2,0	25,0	18,7	55,1	0,32
2,0	40,0	14,5	59,1	0,29
3,0	10,0	21,3	51,8	0,32
3,0	25,0	28,5	62,1	0,48
3,0	40,0	26,3	65,4	0,48
4,0	10,0	28,4	55,7	0,42
4,0	25,0	37,5	65,4	0,59
4,0	40,0	37,2	67,9	0,61
5,0	10,0	34,7	55,9	0,48
5,0	25,0	45,7	64,8	0,66
5,0	40,0	47,4	66,7	0,70
<b>5,8</b>	<b>36,4</b>	<b>54,5</b>	<b>63,7</b>	<b>0,72</b>
6,0	10,0	40,3	52,3	0,48
6,0	25,0	53,2	60,5	0,67
6,0	40,0	56,7	61,7	0,71
7,0	10,0	45,0	44,9	0,41
7,0	25,0	59,8	52,4	0,61
7,0	40,0	65,3	52,9	0,65
8,0	10,0	48,9	33,7	0,21
8,0	25,0	65,7	40,6	0,43
8,0	40,0	73,0	40,4	0,46

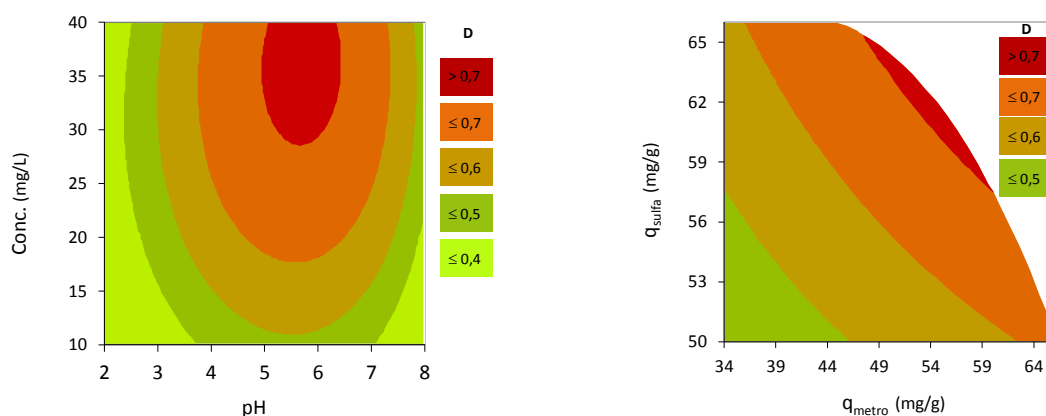
Encontra-se no Anexo H uma descrição da metodologia empregue e resultados mais pormenorizados. Apresentam-se na Tabela 42 alguns dos valores gerados, para as respostas e índice global D, pela função Desejabilidade, assinalando-se a negrito o valor mínimo e máximo (ótimo global – solução de compromisso).

As condições que maximizam a desejabilidade global, para a situação em estudo, são para o pH um valor de 5,8 e para a concentração valores próximos de 40 mg/L, o que corresponde a uma desejabilidade máxima de 0,72. Este resultado está de acordo com os estudos apresentados na secção 4.5.2. Para os ensaios a pH 6 e para concentrações de 40 mg/L, os valores médios, observados, para as capacidades de adsorção ( $q_{exp}$ ) foram de 53,4 e de 69,3 mg/g para Metronidazol e Sulfametoxazol, respetivamente. Estes são valores próximos dos estimados pela função desejabilidade para o valor ótimo, 54,5 mg/g e 63,7 mg/g. De modo que não se realizaram novos ensaios, em particular a pH 5,8 e 36,4 mg/g (ponto ótimo previsto pela função de desejabilidade), para confirmação da validade das estimativas da função desejabilidade. A superfície de resposta, apresentada na Figura 37, permite avaliar o comportamento da desejabilidade em função das variáveis independentes (pH e concentração inicial).



**Figura 37** Superfície de resposta para a função desejabilidade.

É interessante verificar a existência de uma zona com patamar na proximidade do ponto ótimo, indicando que pequenas alterações nos valores das variáveis independentes não terão impactos significativos na desejabilidade global. Para uma melhor visualização da região de maior desejabilidade e da influência das variáveis independentes e efeito sobre as respostas (capacidades de adsorção dos antibióticos), recorreu-se aos gráficos de contorno que se ilustram na Figura 38.



**Figura 38** Gráficos de contorno para a Desejabilidade em função das variáveis independentes (gráfico à esquerda) e em função das variáveis dependentes (gráfico à direita).

De facto, a otimização prevê a existência de uma faixa de pH compreendida, aproximadamente entre 5,0 e 6,4, para a qual a desejabilidade global apresenta valores  $\geq 0,70$ , mas inferiores a 0,72 (Anexo H). O gráfico de contorno permite visualizar a existência desta faixa (curva de nível a vermelho) ou patamar, no qual se encontra o ótimo global. Mas se a desejabilidade global é nesta zona muito pouco afetada pelas variáveis independentes (pH e concentração), já o efeito sobre as respostas não é desprezável. O gráfico de contorno representado à direita da Figura 38 permite analisar a relação entre as respostas e a desejabilidade global.

Na zona de desejabilidade máxima (fixando a concentração em 40 mg/L), a capacidade de remoção (prevista) do antibiótico Metronidazol varia entre 47,4 mg/g e 60,2 mg/g, o que corresponde a uma variação de  $\sim 27\%$ . A variação para a capacidade de adsorção de Sulfametoxazol é menor, a previsão é de  $\sim 12\%$ , o que corresponde a uma gama aproximadamente compreendida entre 66,7 mg/g e 58,7 mg/g.

Estes resultados realçam a necessidade de não observar a desejabilidade global como um valor absoluto e de atender ao comportamento individual das respostas. Em resumo, poderá dizer-se que a otimização global prevê uma zona de desejabilidade máxima, com valores para o índice global D iguais ou ligeiramente superiores a 0,70, correspondendo esta zona a uma gama de condições de pH compreendida entre 5,0 e 6,4. Dentro destas condições de operação, as capacidades de adsorção dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol irão variar  $\sim 27$  e  $12\%$ , respetivamente. Sendo que esta variação é como já se viu antagónica. O aumento de pH irá beneficiar a remoção de Metronidazol, diminuindo a de Sulfametoxazol e vice-versa.

Estes resultados evidenciam a dificuldade em remover eficientemente as dezenas de substâncias farmacêuticas (possuidoras de propriedades físico-químicas distintas) que são diariamente introduzidas nos efluentes residuais. Só a adoção de tratamentos avançados poderá proporcionar uma maior redução destes compostos e minimizar a exposição do meio ambiente e humano.



## **CAPÍTULO IV**

## **CONCLUSÕES**





## 1 CONCLUSÕES

A casca de noz é um subproduto agrícola da indústria de processamento de frutos secos, que pelo conjunto das suas características (resíduo renovável, inerte, não-tóxico e de elevada resistência mecânica), encontra já algumas aplicações comerciais em indústrias tão diversas como a da cosmética ou a petrolífera. Para lá das utilizações comerciais, já bem estabelecidas, outras aplicações, no âmbito da descontaminação de efluentes líquidos, têm sido exploradas.

O trabalho desenvolvido incidiu sob este aspecto e procurou ampliar a aplicabilidade deste resíduo ao tratamento de efluentes contaminados com produtos farmacêuticos (e seus resíduos ou produtos de degradação), nomeadamente dos antibióticos, Metronidazol e Sulfametoxazol.

Para avaliação do potencial de aplicação deste material consideraram-se essencialmente duas abordagens:

- i) A utilização de resíduos de casca de noz sem tratamento e modificada quimicamente (tratamento ácido ou alcalino);
- ii) A utilização de resíduos de casca de noz como material precursor na produção de carvão ativado.

A caracterização física/química da casca de noz permitiu corroborar a natureza complexa deste material lignocelulósico. A superfície apresenta uma morfologia bastante irregular e heterogénea, com uma porosidade de aproximadamente 17 % (estimada por porosimetria de mercúrio) e uma estrutura dominada por macroporos e mesoporos, possuindo uma distribuição de poros alargada. No que respeita à composição superficial, destaca-se a presença de grupos hidroxilo, carbonilo e carboxílico. Os resultados obtidos sugerem que o grupo carbonilo será, depois do grupo hidroxilo, o segundo mais abundante à superfície da casca de noz. A função ácido carboxílico aparece como a terceira mais expressiva à superfície da casca de noz sendo, muito provavelmente, aquela que determina o carácter ácido evidenciado pela superfície da casca de noz ( $\text{pH}_{\text{pcz}}$  de 4,4).

O comportamento ácido/base da superfície da casca de noz foi, a par do pH das soluções, determinante no processo de remoção. Registaram-se diferenças significativas na capacidade de sorção, com o antibiótico Sulfametoxazol a apresentar valores entre 4 a 2 vezes superiores aos observados para o Metronidazol, em toda a gama de pH avaliada. O pH das soluções desempenha um duplo papel uma vez que não só determina a carga superficial da casca de noz, influenciando simultaneamente, a ionização dos grupos funcionais dos antibióticos.

As modificações introduzidas, após os tratamentos ácido e alcalino, não se traduziram em alterações significativas na eficiência de remoção. Em ambas as circunstâncias, com ou sem modificação, o desempenho da casca noz apresentou uma dependência significativa com o valor de pH do meio. As melhores condições verificaram-se para valores de  $\text{pH} \leq 4$ , que são pouco prováveis em efluentes reais.

Simultaneamente a reduzida capacidade de sorção da casca de noz limita consideravelmente a sua aplicabilidade na remoção dos antibióticos em estudo.

Selecionaram-se as variáveis razão de impregnação e temperatura de ativação (variáveis que assumem particular importância nas características estruturais/texturais) para avaliação da influência que exercem na produção de carvão ativado, tendo como o objectivo estabelecer as melhores condições que permitissem maximizar a remoção dos antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol. O planeamento experimental selecionado permitiu obter um modelo descritivo da influência de cada um destas variáveis. A variável temperatura de ativação foi a que maior efeito exerceu na capacidade de sorção de ambos os antibióticos. As melhores capacidades de remoção foram obtidas para os carvões produzidos a 900 °C, com valores de 97,8 mg/g para Metronidazol e de 90,7 mg/g para Sulfametoxazol. A razão de impregnação teve, nas condições avaliadas, um efeito pouco expressivo na remoção. Dos dois parâmetros avaliados, apenas a temperatura de ativação exerceu influência estatisticamente significativa (para um nível de 95 %).

A avaliação do pH no ponto de carga zero ( $\text{pH}_{\text{pcz}}$ ) revelou que os materiais produzidos são anfotéricos, apresentando uma superfície ligeiramente ácida. Verificou-se que maiores temperaturas de ativação conduziram a superfícies menos ácidas, registando-se para o carvão ativado a 900 °C (e razão de impregnação 1:1 – carvão ativado 900-1:1) um  $\text{pH}_{\text{pcz}}$  de aproximadamente 6.

As condições de ativação exerceram um efeito mais expressivo nas características estruturais dos carvões ativados. Foi verificada a influência, em particular da temperatura de ativação, nas propriedades texturais. O aumento da temperatura de ativação traduziu-se em aumentos no volume de meso e microporos e consequentemente em materiais com áreas específicas superiores (valor máximo de 1184 m<sup>2</sup>/g para o carvão ativado 900 - 1:1).

A distribuição de tamanho de poros foi também significativamente diferente para a amostra de carvão ativado 900-1:1 e, ao contrário do observado para os carvões ativados 700-1:1 e 800-1:1,5, o volume de mesoporos é para este carvão ativado superior ao volume correspondente à macroporosidade, 0,0969 e 0,0383 cm<sup>3</sup>/g, respetivamente. O carvão ativado produzido nestas condições (900-1:1) apresentou simultaneamente uma distribuição de tamanho de poros mais alargada e uma mesoporosidade mais desenvolvida e também uma maior microporosidade, o que se traduziu numa maior área específica.

As melhores condições de produção de carvão ativado foram obtidas para uma temperatura de 900 °C e razão de impregnação 1:1, para um tempo de carbonização de 1 hora. O carvão obtido nestas condições apresentou o melhor desempenho na remoção dos dois antibióticos, o maior volume de poros e de área específica.

O estudo cinético indicou que o tempo de equilíbrio é atingido para os sistemas estudados ao fim de 48 h. O modelo de pseudo-1ª ordem representa, de um modo geral, a cinética de sorção para diferentes valores de pH e de temperaturas.

O pH da solução exerce influência na cinética de remoção de ambos os antibióticos, verificando-se que para condições de pH próximas do valor do ponto de carga zero ( $\text{pH} \sim 6$ ) parecem assegurar, para os dois antibióticos, uma cinética mais favorável. O modelo de difusão MDHS também descreve de forma adequada a cinética, sugerindo a contribuição da difusão para o processo global. Os coeficientes de difusão interna estimados pelo modelo MDHS são da ordem de grandeza de  $10^{-11}$  a  $10^{-10} \text{ m}^2 \text{ min}^{-1}$ .

Dos fatores avaliados (pH, temperatura e concentração inicial de antibiótico) através do desenho experimental *Box-Behnken*, destaca-se a influência do pH na quantidade adsorvida, contudo a gama de valores de pH que maximizam as respostas é distinta. Enquanto a remoção de Metronidazol é favorecida por valores crescentes de pH, coincidindo o valor máximo com o limite superior do domínio de estudo (pH 8), em contraste o Sulfametoxazol apresenta um valor máximo em torno de 5,5, verificando uma diminuição na extensão da adsorção à medida que o pH aumenta. As melhores condições, previstas pelos modelos, para a remoção do antibiótico Sulfametoxazol (106,9 mg/g) são obtidas para a temperatura de 30 °C, concentração inicial de 40 mg/L e valor de pH de 5,5. Para o antibiótico Metronidazol (127 mg/g) as condições coincidem com os níveis máximos atribuídos a cada um dos fatores ( $\text{pH} = 8$ ,  $C_{\text{in}} = 40 \text{ mg/L}$ ,  $T = 30 \text{ °C}$ ).

O equilíbrio de adsorção nos sistemas monocomponente é bem descrito pelos modelos de Langmuir, Langmuir-Freundlich e Redlich-Peterson, não se observando diferenças estatísticas significativas (para um nível de confiança de 95 %). A maior capacidade de remoção, prevista pelo modelo de Langmuir, é observada para o antibiótico Metronidazol (107,4 mg/g). O Sulfametoxazol apresenta o valor de 93,5 mg/g. Os valores da constante de afinidade de Langmuir indicam maior afinidade do adsorvente para o antibiótico Sulfametoxazol. A maior dimensão de Sulfametoxazol e particularmente a sua não planaridade poderão justificar a menor capacidade de adsorção, apesar da maior afinidade que possui para a superfície do carvão ativado.

Os modelos Fator P e Langmuir-Freundlich Expandido, ajustam adequadamente os dados de equilíbrio do sistema bicomponente. O modelo de Langmuir Expandido, embora apresente um melhor ajuste aos dados experimentais, em comparação com os modelos preditivos e de interação, sobrestima (à semelhança destes) a capacidade de sorção de Sulfametoxazol, subestimando em simultâneo a remoção de Metronidazol. Os resultados observados para o sistema bicomponente indicam que, apesar da existência de competição entre as espécies pelos sítios ativos do adsorvente, não há evidência de efeitos de inibição na capacidade total de sorção.

A aplicação do desenho experimental composto e centrado (CCD), para avaliar a influência das variáveis pH e concentração na capacidade de adsorção dos antibióticos em sistema binário, permitiu confirmar que, além do pH ser o fator que mais influência tem na sorção, o seu efeito na adsorção dos antibióticos é antagónico - a determinação de um valor de pH ótimo para a remoção destes antibióticos será inevitavelmente resultante de uma solução de compromisso. As condições que maximizam a função desejabilidade ocorrem para um valor de pH de 5,8 (e concentração próximas de 40 mg/L), o que corresponde a uma desejabilidade máxima de 0,72.

A otimização global prevê a existência de uma faixa de pH compreendida, aproximadamente entre 5,0 e 6,4, para a qual a desejabilidade global apresenta valores  $\geq 0,70$ , mas inferiores a 0,72 (valor máximo). Na zona de desejabilidade máxima (fixando a concentração em 40 mg/L), a capacidade de remoção (prevista) do antibiótico Metronidazol varia entre 47,4 mg/g e 60,2 mg/g, o que corresponde a uma variação de cerca de 27 %. A variação para a capacidade de adsorção de Sulfametoxazol é menor, a previsão é de cerca de 12 %, o que corresponde a uma gama entre 66,7 mg/g e 58,7mg/g. Valores de pH próximos do ponto de carga zero do carvão ativado (pH próximo de 6) parecem representar uma boa solução de compromisso para a remoção destes dois fármacos.

## 2 SUGESTÕES PARA TRABALHO FUTURO

A presença no meio ambiente de dezenas de substâncias desenvolvidas para produzirem efeitos biológicos específicos é motivo de apreensão. O desenvolvimento e a otimização de métodos que permitam uma remoção eficiente destes compostos têm vindo a assumir gradual importância.

O trabalho desenvolvido constituiu uma primeira etapa para confirmação do potencial da casca de noz como material precursor na produção de carvões ativados - com o objectivo de melhorar a eficiência de remoção de antibióticos.

Para dar sequência ao trabalho desenvolvido sugerem-se alguns tópicos:

- Aprofundamento do estudo das condições de ativação química na produção de carvão ativado. Inclusão do tempo de ativação nos parâmetros a avaliar.
- Estudo mais aprofundado da caracterização textural e da química de superfície.
- Ensaio de sorção envolvendo os principais metabolitos dos antibióticos estudados.
- Realização de estudos cinéticos e de equilíbrio com efluentes reais em sistema contínuo.

## **CAPÍTULO V**

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



- [1] AEA, O Ambiente na Europa - Situação e Perspectivas 2010: Síntese, Copenhaga, 2010.
- [2] CE, Relatório da Comissão ao Parlamento Europeu e ao Conselho sobre a execução da Diretiva-Quadro Água (2000/60/CE) - Planos de gestão de bacia hidrográfica, Bruxelas, 2012.
- [3] EEA, The European Environment State and Outlook 2010 - Freshwater Quality, Copenhagen, 2010.
- [4] EEA, Hazardous substances in Europe's fresh and marine waters - An Overview, Copenhagen, 2011.
- [5] WHO, Pharmaceuticals in drinking-water, Geneva, 2012.
- [6] T.A. Ternes, A. Joss, H. Siegrist, Scrutinizing pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment, *Environmental Science & Technology*. 38 (2004) 392A–399A.
- [7] C.G. Daughton, T.A. Ternes, Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?, *Environmental Health Perspectives*. 107 (1999) 907–938.
- [8] S.K. Khetan, T.J. Collins, Human pharmaceuticals in the aquatic environment: A challenge to green chemistry, *Chemical Reviews*. 107 (2007) 2319–2364.
- [9] A.K. Sarmah, M.T. Meyer, A.B. Boxall, A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment, *Chemosphere*. 65 (2006) 725–59.
- [10] D. Fatta-Kassinos, S. Meric, A. Nikolaou, Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 399 (2011) 251–275.
- [11] A. Nikolaou, S. Meric, D. Fatta, Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387 (2007) 1225–1234.
- [12] P.A. Segura, M. François, C. Gagnon, S. Sauvé, Review of the occurrence of anti-infectives in contaminated wastewaters and natural and drinking waters, *Environmental Health Perspectives*. 117 (2009) 675–684.
- [13] S. Mompelat, B. Le Bot, O. Thomas, Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water, *Environment International*. 35 (2009) 803–814.
- [14] K. Kümmerer, The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use-present knowledge and future challenges, *Journal of Environmental Management*. 90 (2009) 2354–2366.
- [15] S.R. Smith, Organic contaminants in sewage sludge (biosolids) and their significance for agricultural recycling, *Philosophical Transactions. Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*. 367 (2009) 4005–4041.
- [16] E. Walters, K. McClellan, R.U. Halden, Occurrence and loss over three years of 72 pharmaceuticals and personal care products from biosolids-soil mixtures in outdoor mesocosms, *Water Research*. 44 (2010) 6011–6020.
- [17] S. Thiele-Bruhn, Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166 (2003) 145–167.

- [18] B. Pan, P. Ning, B. Xing, Part V-Sorption of pharmaceuticals and personal care products, *Environmental Science and Pollution Research*. 16 (2009) 106–116.
- [19] O.V Martin, N. Voulvoulis, Sustainable risk management of emerging contaminants in municipal wastewaters, *Philosophical Transactions. Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*. 367 (2009) 3895–3922.
- [20] A.B.A. Boxall, M.A. Rudd, B.W. Brooks, D.J. Caldwell, K. Choi, S. Hickmann, et al., Review Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: What Are the Big Questions?, *Environmental Health Perspectives*. 120 (2012) 1221–1229.
- [21] EEA-JCR, Environment and human health, Copenhagen, 2013.
- [22] EEA, Pharmaceuticals in the environment - Results of an EEA workshop, Copenhagen, 2010.
- [23] Apifarma - Núcleo de estudos e análise, Consumo de medicamentos, 9 (2012).
- [24] P.K. Jjemba, Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63 (2006) 113–130.
- [25] J. Lienert, T. Bürki, B.I. Escher, Reducing micropollutants with source control: substance flow analysis of 212 pharmaceuticals in faeces and urine, *Water Science and Technology*. 56 (2007) 87–96.
- [26] M. La Farré, S. Pérez, L. Kantiani, D. Barceló, Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 27 (2008) 991–1007.
- [27] M.M. Huber, A. Göbel, A. Joss, N. Hermann, D. Löffler, C.S. McArdell, et al., Oxidation of Pharmaceuticals during Ozonation of Municipal Wastewater Effluents: A Pilot Study, *Environmental Science & Technology*. 39 (2005) 4290–4299.
- [28] W. Xu, G. Zhang, X. Li, S. Zou, P. Li, Z. Hu, et al., Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China, *Water Research*. 41 (2007) 4526–4534.
- [29] A.L. Batt, S. Kim, D.S. Aga, Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations, *Chemosphere*. 68 (2007) 428–435.
- [30] I. Michael, L. Rizzo, C.S. McArdell, C.M. Manaia, C. Merlin, T. Schwartz, et al., Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: a review, *Water Research*. 47 (2013) 957–995.
- [31] J. Radjenović, M. Petrović, D. Barceló, Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment, *Water Research*. 43 (2009) 831–841.
- [32] A.J. Watkinson, E.J. Murby, S.D. Costanzo, Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling, *Water Research*. 41 (2007) 4164–4176.
- [33] N. Le-Minh, S.J. Khan, J.E. Drewes, R.M. Stuetz, Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes, *Water Research*. 44 (2010) 4295–4323.



- [34] M. Gros, M. Petrović, D. Barceló, Tracing pharmaceutical residues of different therapeutic classes in environmental waters by using liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and automated library searching, *Analytical Chemistry*. 81 (2009) 898–912.
- [35] R. Rosal, A. Rodríguez, J.A. Perdigón-Melón, A. Petre, E. García-Calvo, M.J. Gómez, et al., Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation, *Water Research*. 44 (2010) 578–588.
- [36] A.J. Watkinson, E.J. Murby, D.W. Kolpin, S.D. Costanzo, The occurrence of antibiotics in an urban watershed: from wastewater to drinking water, *Science of the Total Environment*. 407 (2009) 2711–2723.
- [37] S. Suárez, M. Carballa, F. Omil, J.M. Lema, How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters?, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 7 (2008) 125–138.
- [38] M.J. García-Galán, M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló, Occurrence of sulfonamide residues along the Ebro River basin: removal in wastewater treatment plants and environmental impact assessment, *Environment International*. 37 (2011) 462–473.
- [39] A. Göbel, C.S. McArdell, A. Joss, H. Siegrist, W. Giger, Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies, *Science of the Total Environment*. 372 (2007) 361–371.
- [40] A.L. Batt, I.B. Bruce, D.S. Aga, Evaluating the vulnerability of surface waters to antibiotic contamination from varying wastewater treatment plant discharges, *Environmental Pollution*. 142 (2006) 295–302.
- [41] A.B.A. Boxall, D.W. Kolpin, B. Halling-Sørensen, Are veterinary medicines causing environmental risks?, *Environmental Science & Technology*. 37 (2003) 286A–294A.
- [42] K. Kümmerer, Antibiotics in the aquatic environment -A review - Part I, *Chemosphere*. 75 (2009) 417–434.
- [43] J. Fick, H. Söderström, R. Lindberg, C. Phan, M. Tysklind, D.G. Larsson, Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production, *Environmental Toxicology and Chemistry*. 28 (2009) 2522–2527.
- [44] D. Li, T. Yu, Y. Zhang, M. Yang, Z. Li, M. Liu, et al., Antibiotic resistance characteristics of environmental bacteria from an oxytetracycline production wastewater treatment plant and the receiving river, *Applied and Environmental Microbiology*. 76 (2010) 3444–3451.
- [45] P.J. Phillips, S.G. Smith, D.W. Kolpin, S.D. Zaugg, H.T. Buxton, E.T. Furlong, et al., Pharmaceutical formulation facilities as sources of opioids and other pharmaceuticals to wastewater treatment plant effluents, *Environmental Science & Technology*. 44 (2010) 4910–4916.
- [46] O.A. H. Jones, N. Voulvoulis, J.N. Lester, Human Pharmaceuticals in Wastewater Treatment Processes, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 35 (2005) 401–427.
- [47] H.R. Buser, M.D. Müller, N. Theobald, Occurrence of the Pharmaceutical Drug Clofibric Acid and the Herbicide Mecoprop in Various Swiss Lakes and in the North Sea, *Environmental Science & Technology*. 32 (1998) 188–192.
- [48] T. Heberer, H.J. Stan, Determination of Clofibric Acid and N-(Phenylsulfonyl)-Sarcosine in Sewage, River and Drinking Water, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 67 (1997) 113–124.

- [49] J. Radjenović, M. Petrović, F. Ventura, D. Barceló, Rejection of pharmaceuticals in nanofiltration and reverse osmosis membrane drinking water treatment, *Water Research*. 42 (2008) 3601–3610.
- [50] R. Loos, B.M. Gawlik, G. Locoro, E. Rimaviciute, S. Contini, G. Bidoglio, EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters, *Environmental Pollution*. 157 (2009) 561–568.
- [51] L.H.M.L.M. Santos, A.N. Araújo, A. Fachini, A. Pena, C. Delerue-Matos, M.C.B.S.M. Montenegro, Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment, *Journal of Hazardous Materials*. 175 (2010) 45–95.
- [52] M. Crane, C. Watts, T. Boucard, Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals, *Science of the Total Environment*. 367 (2006) 23–41.
- [53] J.L.C.M. Dorne, A.M.J. Ragas, G.K. Frampton, D.S. Spurgeon, D.F. Lewis, Trends in human risk assessment of pharmaceuticals, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387 (2007) 1167–1172.
- [54] R.A. Brain, M.L. Hanson, K.R. Solomon, B.W. Brooks, Aquatic plants exposed to pharmaceuticals: effects and risks, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 192 (2008) 67–115.
- [55] G.T. Ankley, B.W. Brooks, D.B. Huggett, J.P. Sumpter, Repeating history pharmaceuticals in the environment, *Environmental Science & Technology*. 15 (2007) 8211–8217.
- [56] F. Pomati, C. Orlandi, M. Clerici, F. Luciani, E. Zuccato, Effects and interactions in an environmentally relevant mixture of pharmaceuticals, *Toxicological Sciences*. 102 (2008) 129–137.
- [57] V. Prakash, M.C. Bishwakarma, A. Chaudhary, R. Cuthbert, R. Dave, M. Kulkarni, et al., The population decline of Gyps vultures in India and Nepal has slowed since veterinary use of diclofenac was banned, *PloS One*. 7 (2012) e49118.
- [58] G. Swan, R. Cuthbert, M. Quevedo, R.E. Green, D.J. Pain, P. Bartels, et al., Toxicity of diclofenac to Gyps vultures, *Biology Letters*. 2 (2006) 279–282.
- [59] G. Swan, V. Naidoo, R. Cuthbert, R.E. Green, D.J. Pain, D. Swarup, et al., Removing the threat of diclofenac to critically endangered Asian vultures, *PLoS Biology*. 4 (2006) 395–402.
- [60] S. Shultz, H.S. Baral, S. Charman, A. A. Cunningham, D. Das, G.R. Ghalsasi, et al., Diclofenac poisoning is widespread in declining vulture populations across the Indian subcontinent, *Proceedings of the Royal Society of London B*. 271 (2004) S458–S460.
- [61] G. Holm, J.R. Snape, R. Murray-Smith, J. Talbot, D. Taylor, P. Sörme, Implementing ecopharmacovigilance in practice: challenges and potential opportunities, *Drug Safety*. 36 (2013) 533–546.
- [62] EEA, Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation, Copenhagen, 2013.
- [63] EEA, The impacts of endocrine disruptors on wildlife, people and their environments, Copenhagen, 2012.

- [64] J.P. Nash, D.E. Kime, L.T.M. Van der Ven, P.W. Wester, F. Brion, G. Maack, et al., Long-Term Exposure to Environmental Concentrations of the Pharmaceutical Ethynylestradiol Causes Reproductive Failure in Fish, *Environmental Health Perspectives*. 112 (2004) 1725–1733.
- [65] M.Y. Gross-Sorokin, S.D. Roast, G.C. Brighty, Assessment of feminization of male fish in english rivers by the environment agency of England and Wales, *Environmental Health Perspectives*. 114 (2006) 147–151.
- [66] S. Jobling, R.W. Burn, K. Thorpe, R. Williams, C. Tyler, Statistical modeling suggests that antiandrogens in effluents from wastewater treatment works contribute to widespread sexual disruption in fish living in English rivers, *Environmental Health Perspectives*. 117 (2009) 797–802.
- [67] B. Schwab, E. Hayes, J. Fiori, F. Mastrocco, N. Roden, D. Cragin, et al., Human pharmaceuticals in US surface waters: a human health risk assessment, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 42 (2005) 296–312.
- [68] V.L. Cunningham, S.P. Binks, M.J. Olson, Human health risk assessment from the presence of human pharmaceuticals in the aquatic environment, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 53 (2009) 39–45.
- [69] G.M. Bruce, R.C. Pleus, S.A. Snyder, Toxicological relevance of pharmaceuticals in drinking water, *Environmental Science & Technology*. 44 (2010) 5619–5629.
- [70] ECDC, Surveillance of Antimicrobial Consumption in Europe - 2010, ECDC, Stockholm, 2013.
- [71] EC, Position of the European Parliament adopted at first reading on 2 July 2013 with a view to the adoption of Directive 2013/.../EU of the European Parliament and of the Council amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy, Brussels, 2013.
- [72] R. Hirsch, T. Ternes, K. Haberer, K. Kratz, Occurrence of antibiotics in the aquatic environment, *Science of the Total Environment*. 225 (1999) 109–118.
- [73] J. Tolls, Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review, *Environmental Science & Technology*. 35 (2001) 3397–3406.
- [74] M.E. Lindsey, T.M. Meyer, E.M. Thurman, Analysis of trace levels of sulfonamide and tetracycline antimicrobials in groundwater and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry, *Analytical Chemistry*. 73 (2001) 4640–4646.
- [75] World Health Organization, The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action, Genebra, Suíça, 2012.
- [76] F. Baquero, J. L. Martínez, R. Cantón, Antibiotics and antibiotic resistance in water environments., *Current Opinion in Biotechnology*. 19 (2008) 260–265.
- [77] K. Kümmerer, Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part II, *Chemosphere*. 75 (2009) 435–441.
- [78] Statement by WHO Director-General - Margaret Chan, Combat drug resistance: no action today means no cure tomorrow, World Health Organization. (2011).
- [79] European Centre for Disease Prevention and Control/European Medicines Agency - (ECDC/EMA), The bacterial challenge: time to react, Stockholm, 2009.

- [80] European Centre for Disease Prevention and Control, Antimicrobial resistance surveillance in Europe - 2011. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), Stockholm, 2012.
- [81] H. Goossens, M. Ferech, R. Vander Stichele, M. Elseviers, Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study, *Lancet*. 365 (2005) 579–587.
- [82] N. Sande-Bruinsma, H. Grundmann, D. Verloo, E. Tiemersma, J. Monen, H. Goossens, et al., Antimicrobial drug use and resistance in Europe, *Emerging Infectious Diseases*. 14 (2008) 1722–1730.
- [83] T.R. Walsh, J. Weeks, D.M. Livermore, M.A. Toleman, Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study, *The Lancet Infectious Diseases*. 11 (2011) 355–362.
- [84] K.K. Kumarasamy, M.A. Toleman, T.R. Walsh, J. Bagaria, F. Butt, R. Balakrishnan, et al., Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study, *The Lancet Infectious Diseases*. 10 (2010) 597–602.
- [85] S.L.A.M. Bronzwaer, O. Cars, U. Buchholz, S. Mölsted, W. Goettsch, I.K. Veldhuijzen, et al., The Relationship between Antimicrobial Use and Antimicrobial Resistance in Europe, *Emerging Infectious Diseases*. 8 (2002) 278–282.
- [86] Infarmed, Estatística do Medicamento - 2011, Lisboa, 2011.
- [87] R. Loos, G. Locoro, S. Comero, S. Contini, D. Schwesig, F. Werres, et al., Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water, *Water Research*. 44 (2010) 4115–4126.
- [88] R. Loos, R. Carvalho, S. Comero, D.C. António, M. Ghiani, T. Lettieri, et al., EU Wide Monitoring Survey on Waste Water Treatment Plant Effluents Contact information, Luxembourg, 2012.
- [89] A. Demirbaş, Fuel Characteristics of olive husk and walnut, hazelnut, sunflower, and almond shells, *Energy Sources*. 24 (2002) 215–221.
- [90] M.S. Kostich, J.M. Lazorchak, Risks to aquatic organisms posed by human pharmaceutical use, *Science of the Total Environment*. 389 (2008) 329–339.
- [91] R. Lindberg, P.A. Jarnheimer, B. Olsen, M. Johansson, M. Tysklind, Determination of antibiotic substances in hospital sewage water using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry and group analogue internal standards, *Chemosphere*. 57 (2004) 1479–1488.
- [92] S. Coutu, V. Wyrsh, H.K. Wynn, L. Rossi, D. a Barry, Temporal dynamics of antibiotics in wastewater treatment plant influent, *Science of the Total Environment*. 458-460 (2013) 20–26.
- [93] A.J. Tamhankar, V. Diwan, C. Sta, Seasonal and temporal variation in release of antibiotics in hospital wastewater: estimation using continuous and grab sampling, *PLOS One*. 8 (2013) e68715.
- [94] S. Castiglioni, R. Bagnati, R. Fanelli, F. Pomati, D. Calamari, E. Zuccato, Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy, *Environmental Science & Technology*. 40 (2006) 357–363.

- [95] R. López-Serna, A. Jurado, E. Vázquez-Suñé, J. Carrera, M. Petrovic, D. Barceló, Occurrence of 95 pharmaceuticals and transformation products in urban groundwaters underlying the metropolis of Barcelona, Spain, *Environmental Pollution*. 174 (2013) 305–315.
- [96] K.K. Barnes, D.W. Kolpin, E.T. Furlong, S.D. Zaugg, M.T. Meyer, L.B. Barber, A national reconnaissance of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States-I) groundwater, *Science of the Total Environment*. 402 (2008) 192–200.
- [97] M.J. Benotti, R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, B.D. Stanford, S.A. Snyder, Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water, *Environmental Science & Technology*. 43 (2009) 597–603.
- [98] D. Avisar, Y. Lester, D. Ronen, Sulfamethoxazole contamination of a deep phreatic aquifer, *Science of The Total Environment*. 407 (2009) 4278–4282.
- [99] T.A. Ternes, M. Bonerz, N. Herrmann, B. Teiser, H.R. Andersen, Irrigation of treated wastewater in Braunschweig, Germany: an option to remove pharmaceuticals and musk fragrances, *Chemosphere*. 66 (2007) 894–904.
- [100] M. Clara, B. Strenn, O. Gans, E. Martinez, N. Kreuzinger, H. Kroiss, Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants, *Water Research*. 39 (2005) 4797–807.
- [101] X.-S. Miao, F. Bishay, M. Chen, C.D. Metcalfe, Occurrence of Antimicrobials in the Final Effluents of Wastewater Treatment Plants in Canada, *Environmental Science & Technology*. 38 (2004) 3533–3541.
- [102] S.D. Kim, J. Cho, I.S. Kim, B.J. Vanderford, S.A. Snyder, Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters, *Water Research*. 41 (2007) 1013–1021.
- [103] K.D. Brown, J. Kulis, B. Thomson, T.H. Chapman, D.B. Mawhinney, Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico, *Science of the Total Environment*. 366 (2006) 772–783.
- [104] E. Vulliet, C. Cren-Olivé, Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale , in surface and groundwaters intended to human consumption, *Environmental Pollution*. 159 (2011) 2929–2934.
- [105] L.H.M.L.M. Santos, M. Gros, S. Rodriguez-Mozaz, C. Delerue-Matos, A. Pena, D. Barceló, et al., Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals, *Science of the Total Environment*. 461-462 (2013) 302–316.
- [106] L. Kovalova, H. Siegrist, H. Singer, A. Wittmer, C.S. McArdell, Hospital wastewater treatment by membrane bioreactor: performance and efficiency for organic micropollutant elimination, *Environmental Science & Technology*. 46 (2012) 1536–1545.
- [107] S. Beier, C. Cramer, S. Köster, C. Mauer, L. Palmowski, H.F. Schröder, et al., Full scale membrane bioreactor treatment of hospital wastewater as forerunner for hot-spot wastewater treatment solutions in high density urban areas, *Water Science and Technology*. 63 (2011) 66–71.

- [108] M.J. Gómez, M. Petrović, A.R. Fernández-Alba, D. Barceló, Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters, *Journal of Chromatography A*. 1114 (2006) 224–233.
- [109] R. López-Serna, S. Pérez, A. Ginebreda, M. Petrović, D. Barceló, Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry, *Talanta*. 83 (2010) 410–424.
- [110] M. Vosough, H. Mashhadiabbas Esfahani, Fast HPLC-DAD quantification procedure for selected sulfonamids, metronidazole and chloramphenicol in wastewaters using second-order calibration based on MCR-ALS, *Talanta*. 113 (2013) 68–75.
- [111] F. Ferrari, A. Gallipoli, M. Balderacchi, M.M. Ulaszewska, E. Capri, M. Trevisan, Exposure of the main Italian river basin to pharmaceuticals, *Journal of Toxicology*. 2011 (2011) 1–11.
- [112] B. Kasprzyk-Hordern, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy, The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters, *Water Research*. 43 (2009) 363–380.
- [113] B. Morasch, F. Bonvin, H. Reiser, D. Grandjean, L.F. de Alencastro, C. Perazzolo, et al., Occurrence and fate of micropollutants in the Vidy Bay of Lake Geneva, Switzerland. Part II: micropollutant removal between wastewater and raw drinking water, *Environmental Toxicology and Chemistry*. 29 (2010) 1658–1668.
- [114] F. Pomati, S. Castiglioni, E. Zuccato, R. Fanelli, D. Vigetti, C. Rossetti, et al., Effects of a complex mixture of therapeutic drugs at environmental levels on human embryonic cells, *Environmental Science & Technology*. 40 (2006) 2442–2447.
- [115] B. Ferrari, R. Mons, B. Vollat, B. Fraysse, N. Paxéus, R. Lo Giudice, et al., Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment?, *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23 (2004) 1344–1354.
- [116] A. Novo, S. André, P. Viana, O.C. Nunes, C.M. Manaia, Antibiotic resistance, antimicrobial residues and bacterial community composition in urban wastewater, *Water Research*. 47 (2013) 1875–1887.
- [117] CE, Sétimo relatório sobre a aplicação da diretiva águas residuais urbanas (91/271/CEE), Bruxelas, 2013.
- [118] M. Cirja, P. Ivashechkin, A. Schäffer, P.F.X. Corvini, Factors affecting the removal of organic micropollutants from wastewater in conventional treatment plants (CTP) and membrane bioreactors (MBR), *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 7 (2007) 61–78.
- [119] A. Joss, E. Keller, A.C. Alder, A. Göbel, C.S. McArdell, T. Ternes, et al., Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment, *Water Research*. 39 (2005) 3139–3152.
- [120] M. Carballa, F. Omil, J.M. Lema, M. Llompart, C. García-Jares, I. Rodríguez, et al., Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant, *Water Research*. 38 (2004) 2918–2926.
- [121] L.J. Zhou, G.G. Ying, S. Liu, J.L. Zhao, B. Yang, Z.F. Chen, et al., Occurrence and fate of eleven classes of antibiotics in two typical wastewater treatment plants in South China, *Science of the Total Environment*. 452–453 (2013) 365–376.

- [122] M.J. García-Galán, T. Garrido, J. Fraile, A. Ginebreda, M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló, Simultaneous occurrence of nitrates and sulfonamide antibiotics in two ground water bodies of Catalonia (Spain), *Journal of Hydrology*. 383 (2010) 93–101.
- [123] D. Dolar, M. Gros, S. Rodriguez-Mozaz, J. Moreno, J. Comas, I. Rodriguez-Roda, et al., Removal of emerging contaminants from municipal wastewater with an integrated membrane system, MBR-RO, *Journal of Hazardous Materials*. 239-240 (2012) 64–69.
- [124] M. Clara, N. Kreuzinger, B. Strenn, O. Gans, H. Kroiss, The solids retention time-a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants, *Water Research*. 39 (2005) 97–106.
- [125] A. Jelic, M. Gros, A. Ginebreda, R. Cespedes-Sánchez, F. Ventura, M. Petrovic, et al., Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment, *Water Research*. 45 (2011) 1165–1176.
- [126] E.H. Turgut, M. Özyazici, Bioavailability File: Metronidazole, *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*. 29 (2004) 39–49.
- [127] S. Gartsier, E. Urich, R. Alexy, K. Kümmerer, Anaerobic inhibition and biodegradation of antibiotics in ISO test schemes, *Chemosphere*. 66 (2007) 1839–1848.
- [128] C. Zwiener, Occurrence and analysis of pharmaceuticals and their transformation products in drinking water treatment, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387 (2007) 1159–1162.
- [129] C. Adams, M. Asce, Y. Wang, K. Loftin, M. Meyer, Removal of Antibiotics from Surface and Distilled Water in Conventional Water Treatment Processes, *Journal of Environmental Engineering*. 128 (2002) 253–260.
- [130] J. Margot, C. Kienle, A. Magnet, M. Weil, L. Rossi, L.F. Alencastro, et al., Treatment of micropollutants in municipal wastewater: Ozone or powdered activated carbon?, *Science of The Total Environment*. 461-462 (2013) 480–498.
- [131] N.M. Vieno, H. Härkki, T. Tuhkanen, L. Kronberg, Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant, *Environmental Science & Technology*. 41 (2007) 5077–5084.
- [132] S.A. Snyder, S. Adham, A.M. Redding, F.S. Cannon, J. DeCarolis, J. Oppenheimer, et al., Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals, *Desalination*. 202 (2007) 156–181.
- [133] L.F. Delgado, P. Charles, K. Glucina, C. Morlay, The removal of endocrine disrupting compounds, pharmaceutically activated compounds and cyanobacterial toxins during drinking water preparation using activated carbon — A review, *Science of the Total Environment*. 435-436 (2012) 509–525.
- [134] A. Joss, H. Siegrist, T.A. Ternes, Are we about to upgrade wastewater treatment for removing organic micropollutants?, *Water Science and Technology*. 57 (2008) 251–225.
- [135] M. Grassi, L. Rizzo, A. Farina, Endocrine disruptors compounds, pharmaceuticals and personal care products in urban wastewater: implications for agricultural reuse and their removal by adsorption process., *Environmental Science and Pollution Research*. 20 (2013) 3616–3628.
- [136] L.N. Nguyen, F.I. Hai, J. Kang, W.E. Price, L.D. Nghiem, Removal of trace organic contaminants by a membrane bioreactor – granular activated carbon (MBR – GAC ) system, *Bioresource Technology*. 113 (2012) 169–173.

- [137] P.E. Stackelberg, J. Gibs, E.T. Furlong, M.T. Meyer, S.D. Zaugg, R.L. Lippincott, Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds, *Science of the Total Environment*. 377 (2007) 255–272.
- [138] L. Kovalova, H. Siegrist, U. Von Gunten, J. Eugster, M. Hagenbuch, A. Wittmer, et al., Elimination of micropollutants during post-treatment of hospital wastewater with powdered activated carbon, ozone, and UV, *Environmental Science & Technology*. 47 (2013) 7899–7908.
- [139] D.P. Grover, J.L. Zhou, P.E. Frickers, J.W. Readman, Improved removal of estrogenic and pharmaceutical compounds in sewage effluent by full scale granular activated carbon: impact on receiving river water, *Journal of Hazardous Materials*. 185 (2011) 1005–1011.
- [140] J. Reungoat, M. Macova, B.I. Escher, S. Carswell, J.F. Mueller, J. Keller, Removal of micropollutants and reduction of biological activity in a full scale reclamation plant using ozonation and activated carbon filtration, *Water Research*. 44 (2010) 625–637.
- [141] J. Reungoat, B.I. Escher, M. Macova, F.X. Argaud, W. Gernjak, J. Keller, Ozonation and biological activated carbon filtration of wastewater treatment plant effluents, *Water Research*. 46 (2012) 863–872.
- [142] K. Adamcza, S. Lyko, S. Nafo, H. Evenblij, A. Cornelissen, E. Igos, et al., Pharmaceutical residues in the aquatic system – A challenge for the future. Insights and activities of the of the European cooperation project PILLS, Germany, 2012.
- [143] T.A. Ternes, M.L. Janex-Habibi, T. Knacker, N. Kreuzinger, H. Siegrist, Assessment of technologies for the removal of pharmaceuticals and personal care products in sewage and drinking water facilities to improve the indirect potable water reuse - project poseidon, Germany, 2004.
- [144] P. Westerhoff, Y. Yoon, S. Snyder, E. Wert, Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes, *Environmental Science & Technology*. 39 (2005) 6649–6663.
- [145] L.N. Nguyen, F.I. Hai, J. Kang, W.E. Price, L.D. Nghiem, Coupling granular activated carbon adsorption with membrane bioreactor treatment for trace organic contaminant removal: Breakthrough behaviour of persistent and hydrophilic compounds, *Journal of Environmental Management*. 119 (2013) 173–181.
- [146] USEPA, Water Treatment Technology Feasibility Support Document for Chemical Contaminants for the Second Six-Year Review of National Primary Drinking Water Regulations, 2009.
- [147] WHO, Guidelines for Drinking-water Quality - Fourth Edition, Fourth Edi, World Health Organization, Geneva, 2011.
- [148] F. Rodríguez-Reinoso, Activated Carbon and Adsorption, in: *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*, Elsevier Science Ltd, Oxford, 2001: 22–35.
- [149] M. Inagaki, Pores in carbon materials-importance of their control, *New Carbon Materials*. 24 (2009) 193–232.
- [150] C. Moreno-Castilla, Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials, *Carbon*. 42 (2004) 83–94.



- [151] E. Fuente, J.A. Menéndez, D. Suárez, M.A. Montes-Morán, Basic Surface Oxides on Carbon Materials: A Global View, *Langmuir*. 19 (2003) 3505–3511.
- [152] T. Karanfil, J. Kilduff, Role of granular activated carbon surface chemistry on the adsorption of organic compounds. 1. Priority pollutants, *Environmental Science & Technology*. 33 (1999) 3217–3224.
- [153] H.P. Boehm, Surface oxides on carbon and their analysis: a critical assessment, *Carbon*. 40 (2002) 145–149.
- [154] M. V López-Ramón, F. Stoeckli, C. Moreno-Castilla, F. Carrasco-Marín, On the characterization of acidic and basic surface sites on carbons by various techniques, *Carbon*. 37 (1999) 1215–1221.
- [155] S. Barton, Acidic and basic sites on the surface of porous carbon, *Carbon*. 35 (1997) 1361–1366.
- [156] D. Suarez, J.A. Menendez, E. Fuente, M.A. Montes-Moran, Contribution of Pyrone-Type Structures to Carbon Basicity: An ab Initio Study, *Langmuir*. 15 (1999) 3897–3904.
- [157] M.A. Montes-Morán, J.A. Menéndez, E. Fuente, D. Suárez, Contribution of the Basal Planes to Carbon Basicity: An Ab Initio Study of the  $\text{H}_3\text{O}^+$  - $\pi$  Interaction in Cluster Models, *The Journal of Physical Chemistry B*. 102 (1998) 5595–5601.
- [158] F. Rodríguez-Reinoso, The Role of Carbon in Heterogeneous Catalysis, *Carbon*. 36 (1998) 159–175.
- [159] S. Haydar, M.A. Ferro-García, J. Rivera-Utrilla, J.P. Joly, Adsorption of p-nitrophenol on an activated carbon with different oxidations, *Carbon*. 41 (2003) 387–395.
- [160] J. Rivera-Utrilla, M. Sánchez-Polo, The role of dispersive and electrostatic interactions in the aqueous phase adsorption of naphthalenesulphonic acids on ozone-treated activated carbons, *Carbon*. 40 (2002) 2685–2691.
- [161] C. Moreno-Castilla, J. Rivera-Utrilla, M.V. López-Ramón, F. Carrasco-Marín, Adsorption of some substituted phenols on activated carbons from a bituminous coal, *Carbon*. 33 (1995) 845–851.
- [162] L.R. Radovic, I.F. Silva, J.I. Ume, J.A. Menéndez, C.A. Leon y Leon, A. Scaroni, An experimental and theoretical study of the adsorption of aromatics possessing electron-withdrawing and electron-donating functional groups by chemically modified activated carbons, *Carbon*. 35 (1997) 1339–1348.
- [163] M. Franz, H.A. Arafat, N.G. Pinto, Effect of chemical surface heterogeneity on the adsorption mechanism of dissolved aromatics on activated carbon, *Carbon*. 38 (2000) 1807–1819.
- [164] E. Castillejos-Lopéz, N.D. Nevskaya, V. Muñoz, I. Rodríguez-Ramos, A. Guerrero-Ruiz, Specific interactions between aromatic electrons of organic compounds and graphite surfaces as detected by immersion calorimetry, *Langmuir*. 20 (2004) 1–3.
- [165] M. Streat, D.J. Horner, Adsorption of highly soluble herbicides from water using activated carbon and hypercrosslinked polymers, *Trans IChemE, Part B*. 78 (2000) 363–382.
- [166] A. Dabrowski, P. Podkościelny, Z. Hubicki, M. Barczak, Adsorption of phenolic compounds by activated carbon-a critical review, *Chemosphere*. 58 (2005) 1049–1070.

- [167] H. Tamon, M. Okazaki, Desorption characteristics of aromatic compounds in aqueous solution on solid adsorbents, *Journal of Colloid and Interface Science*. 179 (1996) 181–187.
- [168] E. Lorenc-Grabowska, G. Gryglewicz, J. Machnikowski, p-Chlorophenol adsorption on activated carbons with basic surface properties, *Applied Surface Science*. 256 (2010) 4480–4487.
- [169] A.P. Terzyk, Further insights into the role of carbon surface functionalities in the mechanism of phenol adsorption, *Journal of Colloid and Interface Science*. 268 (2003) 301–329.
- [170] D.M. Nevskaja, A. Guerrero-Ruiz, Comparative study of the adsorption from aqueous solutions and the desorption of phenol and nonylphenol substrates on activated carbons, *Journal of Colloid and Interface Science*. 234 (2001) 316–321.
- [171] C.O. Ania, B. Cabal, C. Pevida, A. Arenillas, J.B. Parra, F. Rubiera, et al., Removal of naphthalene from aqueous solution on chemically modified activated carbons, *Water Research*. 41 (2007) 333–340.
- [172] A.P. Terzyk, Molecular properties and intermolecular forces-factors balancing the effect of carbon surface chemistry in adsorption of organics from dilute aqueous solutions, *Journal of Colloid and Interface Science*. 275 (2004) 9–29.
- [173] D.M. Nevskaja, E. Castillejos-Lopez, V. Muñoz, A. Guerrero-Ruiz, Adsorption of aromatic compounds from water by treated carbon materials, *Environmental Science & Technology*. 38 (2004) 5786–5796.
- [174] D.M. Nevskaja, E. Castillejos-Lopez, A. Guerrero-Ruiz, V. Muñoz, Effects of the surface chemistry of carbon materials on the adsorption of phenol–aniline mixtures from water, *Carbon*. 42 (2004) 653–665.
- [175] C.C. Leng, N.G. Pinto, Effects of Surface Properties of Activated Carbons on Adsorption Behavior, *Carbon*. 35 (1997) 1375–1385.
- [176] P.M. Álvarez, J.F. García-Araya, F.J. Beltrán, F.J. Masa, F. Medina, Ozonation of activated carbons: Effect on the adsorption of selected phenolic compounds from aqueous solutions, *Journal of Colloid and Interface Science*. 283 (2005) 503–512.
- [177] P. Pendleton, S.H. Wong, R. Schumann, G. Levay, R. Denoyel, J. Rouquerol, Properties of activated carbon controlling 2-methylisoborneol adsorption, *Carbon*. 35 (1997) 1141–1149.
- [178] M. V. López-Ramón, F. Stoeckli, C. Moreno-Castilla, F. Carrasco-Marín, Specific and non-specific interactions of water molecules with carbon surfaces from immersion calorimetry, *Carbon*. 38 (2000) 825–829.
- [179] H.A. Arafat, M. Franz, N.G. Pinto, Effect of salt on the mechanism of adsorption of aromatics on activated carbon, *Langmuir*. 15 (1999) 5997–6003.
- [180] P. Pendleton, S.H. Wu, A. Badalyan, Activated carbon oxygen content influence on water and surfactant adsorption, *Journal of Colloid and Interface Science*. 246 (2002) 235–240.
- [181] L. Li, P.A. Quinlivan, D.R.U. Knappe, Effects of activated carbon surface chemistry and pore structure on the adsorption of organic contaminants from aqueous solution, *Carbon*. 40 (2002) 2085–2100.

- [182] E.A. Müller, K.E. Gubbins, Molecular simulation study of hydrophilic and hydrophobic behavior of activated carbon surfaces, *Carbon*. 36 (1998) 1433–1438.
- [183] G. Newcombe, M. Drikas, Adsorption of NOM onto activated carbon: electrostatic and non-electrostatic effects, *Carbon*. 35 (1997) 1239–1250.
- [184] F. Haghseresht, S. Nouri, G.Q. Lu, Effects of the solute ionization on the adsorption of aromatic compounds from dilute aqueous solutions by activated carbon, *Langmuir*. 18 (2001) 1574–1579.
- [185] P.C.C. Faria, J.J.M. Orfão, M.F.R. Pereira, Adsorption of anionic and cationic dyes on activated carbons with different surface chemistries, *Water Research*. 38 (2004) 2043–2052.
- [186] M.F.R. Pereira, S.F. Soares, J.J.M. Orfão, J.L. Figueiredo, Adsorption of dyes on activated carbons: influence of surface chemical groups, *Carbon*. 41 (2003) 811–821.
- [187] A.S. Mestre, M.L. Pinto, J. Pires, J.M.F. Nogueira, A.P. Carvalho, Effect of solution pH on the removal of clofibric acid by cork-based activated carbons, *Carbon*. 48 (2010) 972–980.
- [188] A.S. Mestre, J. Pires, J.M.F. Nogueira, J.B. Parra, A.P. Carvalho, C.O. Ania, Waste-derived activated carbons for removal of ibuprofen from solution: role of surface chemistry and pore structure, *Bioresource Technology*. 100 (2009) 1720–6.
- [189] F. Villacañas, M.F.R. Pereira, J.J.M. Orfão, J.L. Figueiredo, Adsorption of simple aromatic compounds on activated carbons, *Journal of Colloid and Interface Science*. 293 (2006) 128–136.
- [190] A.P. Terzyk, The effect of carbon surface chemical composition on the adsorption of acetanilide, *Journal of Colloid and Interface Science*. 272 (2004) 59–75.
- [191] E.G. Furuya, H.T. Chang, Y. Miura, K.E. Noll, A fundamental analysis of the isotherm for the adsorption of phenolic compounds on activated carbon, *Separation and Purification Technology*. 11 (1997) 69–78.
- [192] T. García, R. Murillo, D. Cazorla-Amorós, A.M. Mastral, A. Linares-Solano, Role of the activated carbon surface chemistry in the adsorption of phenanthrene, *Carbon*. 42 (2004) 1683–1689.
- [193] J.M. V. Nabais, J.A. Gomes, Suhas, P.J.M. Carrott, C. Laginhas, S. Roman, Phenol removal onto novel activated carbons made from lignocellulosic precursors: influence of surface properties, *Journal of Hazardous Materials*. 167 (2009) 904–910.
- [194] C.O. Ania, B. Cabal, C. Pevida, A. Arenillas, J.B. Parra, F. Rubiera, et al., Effects of activated carbon properties on the adsorption of naphthalene from aqueous solutions, *Applied Surface Science*. 253 (2007) 5741–5746.
- [195] V.K. Gupta, P.J.M. Carrott, M.M.L. Ribeiro Carrott, Low-cost adsorbents: growing approach to wastewater treatment - a review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 39 (2009) 783–842.
- [196] M.M. Johns, W.E. Marshall, C.A. Toles, Agricultural by-products as granular activated carbons for adsorbing dissolved metals and organics, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 71 (1998) 131–140.
- [197] O. Ioannidou, A. Zabaniotou, Agricultural residues as precursors for activated carbon production—a review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 11 (2007) 1966–2005.

- [198] J.M. Dias, M.C.M. Alvim-Ferraz, M.F. Almeida, J. Rivera-Utrilla, M. Sánchez-Polo, Waste materials for activated carbon preparation and its use in aqueous-phase treatment: a review, *Journal of Environmental Management*. 85 (2007) 833–846.
- [199] ESAC, Report on Point Prevalence Survey of Prescription in European Hospitals - 2009, Antwerp, 2009.
- [200] ECDC, Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals, Stockholm, 2013.
- [201] C.F. Rediguieri, V. Porta, D.S.G. Nunes, T.M. Nunes, H.E. Junginger, S. Kopp, et al., Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Metronidazole, *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 100 (2011) 1618–1627.
- [202] Infarmed, *Prontuário Terapêutico*, Lisboa, 2013.
- [203] C. Zarfl, M. Matthies, J. Klasmeier, A mechanistical model for the uptake of sulfonamides by bacteria, *Chemosphere*. 70 (2008) 753–760.
- [204] Infarmed, *Cotrimox - Folheto Informativo*, Lisboa, 2005.
- [205] IARC, Sulfamethoxazole, IARC - Monographs. 79 (2001).
- [206] M.J. García-Galán, M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló, Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics, *Trends in Analytical Chemistry*. 27 (2008) 1008–1022.
- [207] P. Workman, P.R. Twentyman, Structure/Activity Relationships for the Enhancement by Electron-Affinic Drugs of the Anti-Tumor Effect of CCNU, *British Journal of Cancer*. 46 (1982) 249–259.
- [208] J.L. Davis, D. Little, A.T. Blikslager, M.G. Papich, Mucosal permeability of water-soluble drugs in the equine jejunum: a preliminary investigation, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 29 (2006) 379–385.
- [209] S. Carda-Broch, A. Berthod, Countercurrent chromatography for the measurement of the hydrophobicity of sulfonamide amphoteric compounds, *Chromatographia*. 59 (2004) 79–87.
- [210] W. Szczepaniak, A. Szymański, Relationship between hydrophobic properties of amphoteric sulfonamides and their retention in micellar reversed phase liquid chromatography, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 23 (2000) 1217–1231.
- [211] Y. Wu, R. Fassihi, Stability of metronidazole, tetracycline HCl and famotidine alone and in combination, *International Journal of Pharmaceutics*. 290 (2005) 1–13.
- [212] F. Martínez, A. Gómez, Estimation of the solubility of sulfonamides in aqueous media from partition coefficients and entropies of fusion, *Physics and Chemistry of Liquids*. 40 (2002) 411–420.
- [213] G. Völgyi, R. Ruiz, K. Box, J. Comer, E. Bosch, K. Takács-Novák, Potentiometric and spectrophotometric pKa determination of water-insoluble compounds: validation study in a new cosolvent system, *Analytica Chimica Acta*. 583 (2007) 418–428.

- [214] Z. Qiang, C. Adams, Potentiometric determination of acid dissociation constants (pKa) for human and veterinary antibiotics, *Water Research*. 38 (2004) 2874–2890.
- [215] R. Ocampo-Pérez, F. Orellana-Garcia, M. Sánchez-Polo, J. Rivera-Utrilla, I. Velo-Gala, M. V. López-Ramón, et al., Nitroimidazoles adsorption on activated carbon cloth from aqueous solution, *Journal of Colloid and Interface Science*. 401 (2013) 116–124.
- [216] F. Martínez, C.M. Ávila, A. Gómez, Thermodynamic study of the solubility of some sulfonamides in cyclohexane, *Journal Brazilian Chemical Society*. 14 (2003) 803–808.
- [217] C. Zhou, Y. Jin, J.R. Kenseth, M. Stella, K.R. Wehmeyer, W.R. Heineman, Rapid pKa estimation using vacuum-assisted multiplexed capillary electrophoresis (VAMCE) with ultraviolet detection, *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 94 (2005) 576–589.
- [218] M. Shalaeva, J. Kenseth, F. Lombardo, A. Bastin, Measurement of dissociation constants (pKa Values ) of organic compounds by multiplexed capillary electrophoresis using aqueous and cosolvent buffers, *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 97 (2008) 2581–2606.
- [219] C.E. Lin, C.C. Chang, W.C. Lin, Migration behavior and separation of sulfonamides in capillary zone electrophoresis II. Positively charged species at low pH, *Journal of Chromatography A*. 759 (1997) 203–209.
- [220] C.E. Lin, C.C. Chang, W.C. Lin, Migration behavior and separation of sulfonamides in capillary zone electrophoresis III. Citrate buffer as a background electrolyte, *Journal of Chromatography A*. 768 (1997) 105–112.
- [221] C.E. Lin, W.C. Lin, Y.C. Chen, S.W. Wang, Migration behavior and selectivity of sulfonamides in capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A*. 792 (1997) 37–47.
- [222] L.D. Nghiem, S. Hawkes, Effects of membrane fouling on the nanofiltration of pharmaceutically active compounds (PhACs): Mechanisms and role of membrane pore size, *Separation and Purification Technology*. 57 (2007) 176–184.
- [223] S. Grünheid, G. Amy, M. Jekel, Removal of bulk dissolved organic carbon (DOC) and trace organic compounds by bank filtration and artificial recharge, *Water Research*. 39 (2005) 3219–3228.
- [224] P. Sukul, M. Spiteller, Sulfonamides in the environment as veterinary drugs, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 187 (2006) 67–101.
- [225] M.W. Lam, C.J. Young, R.A. Brain, D.J. Johnson, M.A. Hanson, C.J. Wilson, et al., Aquatic persistence of eight pharmaceuticals in a microcosm study, *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23 (2004) 1431–1440.
- [226] A.L. Boreen, W.A. Arnold, K. McNeill, Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environment: a review, *Aquatic Sciences*. 65 (2003) 320–341.
- [227] A.L. Boreen, W.A. Arnold, K. McNeill, Photochemical fate of sulfa drugs in the aquatic environment: sulfa drugs containing five-membered heterocyclic groups, *Environmental Science & Technology*. 38 (2004) 3933–3940.
- [228] F. Batzias, D. Sidiras, E. Schroeder, C. Weber, Simulation of dye adsorption on hydrolyzed wheat straw in batch and fixed-bed systems, *Chemical Engineering Journal*. 148 (2009) 459–472.

- [229] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, et al., Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, *Bioresource Technology*. 96 (2005) 673–686.
- [230] R. Sun, J.M. Lawther, W.B. Banks, Influence of alkaline pre-treatments on the cell wall components of wheat straw, *Industrial Crops and Products*. 4 (1995) 127–145.
- [231] T. Horikawa, I. Takeda, K. Muroyama, Preparing activated carbon from various nutshells by chemical activation with  $K_2CO_3$ , *Carbon*. 40 (2002) 2381–2386.
- [232] M.L. Martínez, M.M. Torres, C. A. Guzmán, D.M. Maestri, Preparation and characteristics of activated carbon from olive stones and walnut shells, *Industrial Crops and Products*. 23 (2006) 23–28.
- [233] Z. Hu, E.F. Vansant, Synthesis and characterization of a controlled-micropore-size carbonaceous adsorbent produced from walnut shell, *Microporous Materials*. 3 (1995) 603–612.
- [234] A. Aygün, S. Yenisoý-Karakaş, I. Duman, Production of granular activated carbon from fruit stones and nutshells and evaluation of their physical, chemical and adsorption properties, *Microporous and Mesoporous Materials*. 66 (2003) 189–195.
- [235] M.M. Yeganeh, T. Kaghazchi, M. Soleimani, Effect of raw materials on properties of activated carbons, *Chemical Engineering & Technology*. 29 (2006) 1247–1251.
- [236] A.P. Carvalho, M. Gomes, A.S. Mestre, J. Pires, M. Brotas de Carvalho, Activated carbons from cork waste by chemical activation with  $K_2CO_3$ , *Carbon*. 42 (2004) 672–674.
- [237] M.A. Ferro-García, J. Rivera-Utrilla, I. Bautista-Toledo, C. Moreno-Castilla, Adsorption of humic substances on activated carbon from aqueous solutions and their effect on the removal of Cr(III) ions, *Langmuir*. 14 (1998) 1880–1886.
- [238] M.N. Khan, A. Sarwar, Determination of points of zero charge of natural and treated adsorbents, *Surface Review and Letters*. 14 (2007) 461–469.
- [239] C. Hao, R. Clement, P. Yang, Liquid chromatography-tandem mass spectrometry of bioactive pharmaceutical compounds in the aquatic environment-a decade's activities, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387 (2007) 1247–1257.
- [240] R. López-Serna, M. Petrović, D. Barceló, Development of a fast instrumental method for the analysis of pharmaceuticals in environmental and wastewaters based on ultra high performance liquid chromatography (UHPLC)-tandem mass spectrometry (MS/MS), *Chemosphere*. 85 (2011) 1390–1399.
- [241] M. Gros, M. Petrović, D. Barceló, Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters, *Talanta*. 70 (2006) 678–690.
- [242] A. Batt, D. Aga, Simultaneous analysis of multiple classes of antibiotics by ion trap LC/MS/MS for assessing surface water and groundwater contamination, *Analytical Chemistry*. 77 (2005) 2940–2947.
- [243] S.C. Kim, K. Carlson, Quantification of human and veterinary antibiotics in water and sediment using SPE/LC/MS/MS, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387 (2007) 1301–1315.

- [244] R.H. Lindberg, P. Wennberg, M.I. Johansson, M. Tysklind, B.A.V. Andersson, Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden, *Environmental Science & Technology*. 39 (2005) 3421–3429.
- [245] C. Mahugo-Santana, Z. Sosa-Ferrera, M.E. Torres-Padrón, J.J. Santana-Rodríguez, Analytical methodologies for the determination of nitroimidazole residues in biological and environmental liquid samples: a review., *Analytica Chimica Acta*. 665 (2010) 113–122.
- [246] E. Benito-Peña, A. I. Partal-Rodera, M.E. León-González, M.C. Moreno-Bondi, Evaluation of mixed mode solid phase extraction cartridges for the preconcentration of beta-lactam antibiotics in wastewater using liquid chromatography with UV-DAD detection, *Analytica Chimica Acta*. 556 (2006) 415–422.
- [247] S. Ellison, M. Rosslein, A. Williams, EURACHEM/CITAC - Quantifying uncertainty in analytical measurement, Teddington, 2012.
- [248] Relacre, Guia Relacre 13 - Validação de métodos internos de ensaio em análise química, Lisboa, 2000.
- [249] K. Danzer, *Analytical Chemistry - Theoretical and Metrological Fundamentals*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 2007.
- [250] J. Miller, J. Miller, *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*, Sixth Ed., Pearson Education Limited, Harlow, 2010.
- [251] P. Masson, Quality control techniques for routine analysis with liquid chromatography in laboratories, *Journal of Chromatography A*. 1158 (2007) 168–173.
- [252] R. Albert, W. Horwitz, A heuristic derivation of the Horwitz curve, *Analytical Chemistry*. 69 (1997) 789–790.
- [253] W. Horwitz, The certainty of uncertainty, *Journal of AOAC International*. 86 (2003) 109–111.
- [254] W. Horwitz, L. Kamps, K. Boyer, Quality assurance in the analysis of foods and trace constituents, *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. 63 (1980) 1344–1355.
- [255] M. Thompson, Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *The Analyst*. 125 (2000) 385–386.
- [256] M. Thompson, Limitations of the application of the Horwitz Equation: a rebuttal, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 26 (2007) 659–661.
- [257] Comissão Europeia, Decisão da Comissão de 12 de Agosto de 2002 que dá execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados, *Jornal Oficial Das Comunidades Europeias*. (2002) L221/8 – L221/36.
- [258] W. Horwitz, R. Albert, The Concept of Uncertainty as Applied to Chemical Measurements, *Analyst*. 122 (1997) 615–617.
- [259] Ministério da Agricultura - Gabinete de Planeamento e Políticas, Noz, 2007.

- [260] A. Srinivasan, T. Viraraghavan, Removal of oil by walnut shell media, *Bioresource Technology*. 99 (2008) 8217–8220.
- [261] E. Mathias, U. Halkar, Separation and characterization of lignin compounds from the walnut (*Juglans regia*) shell oil using preparative TLC, GC–MS and <sup>1</sup>H NMR, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 71 (2004) 515–524.
- [262] D. Sud, G. Mahajan, M.P. Kaur, Agricultural waste material as potential adsorbent for sequestering heavy metal ions from aqueous solutions - a review, *Bioresource Technology*. 99 (2008) 6017–6027.
- [263] D. Park, S.R. Lim, Y.S. Yun, J.M. Park, Development of a new Cr(VI)-biosorbent from agricultural biowaste, *Bioresource Technology*. 99 (2008) 8810–8818.
- [264] Z. Hu, E.F. Vansant, Carbon molecular sieves produced from walnut shell, *Carbon*. 33 (1995) 561–567.
- [265] C.M. Preston, B.G. Sayer, What's in a nutshell: an investigation of structure by carbon-13 cross-polarization magic-angle spinning nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40 (1992) 206–210.
- [266] A. Demirbaş, Estimating of structural composition of wood and non-wood biomass samples, *Energy Sources*. 27 (2005) 761–767.
- [267] R.M. Rowell, R. Pettersen, J.S. Han, J.S. Rowell, M.A. Tshabalala, F. Service, *Handbook of wood chemistry and wood composites*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 2005.
- [268] L.A. Donaldson, Lignification and lignin topochemistry - an ultrastructural view, *Phytochemistry*. 57 (2001) 859–873.
- [269] M.J. Antal, S.G. Allen, X. Dai, B. Shimizu, M.S. Tam, M. Grønli, Attainment of the theoretical yield of carbon from biomass, *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 39 (2000) 4024–4031.
- [270] H.R. Yuan, R.H. Liu, Study on pyrolysis kinetics of walnut shell, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 89 (2007) 983–986.
- [271] T. Lupascu, I. Dranca, V.T. Popa, M. Vass, Application of thermal analysis to the study of some waste agricultural products for the preparation of active carbons, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 63 (2001) 855–863.
- [272] J.J.M. Orfão, F.J.A. Antunes, J.L. Figueiredo, Pyrolysis kinetics of lignocellulosic materials-three independent reactions model, *Fuel*. 78 (1999).
- [273] F. Suárez-García, A. Martínez-Alonso, J.M.D. Tascón, Pyrolysis of apple pulp: effect of operation conditions and chemical additives, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 62 (2002) 93–109.
- [274] P. Álvarez, C. Blanco, R. Santamaría, M. Granda, Improvement of the thermal stability of lignocellulosic materials by treatment with sulphuric acid and potassium hydroxide, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 72 (2004) 131–139.
- [275] M.J.J. Antal, G. Varhegyi, Cellulose pyrolysis kinetics: the current state of knowledge, *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 34 (1995) 703–717.
- [276] J.A. Caballero, A. Marcilla, J.A. Conesa, Thermogravimetric analysis of olive stones with sulphuric acid treatment, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 44 (1997) 75–88.



- [277] E. Mészáros, E. Jakab, G. Várhegyi, P. Szepesváry, B. Marosvölgyi, Comparative study of the thermal behavior of wood and bark of young shoots obtained from an energy plantation, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 72 (2004) 317–328.
- [278] K. Raveendran, A. Ganesh, K.C. Khilar, Pyrolysis characteristics of biomass and biomass components, *Fuel*. 75 (1996) 987–998.
- [279] K.K. Pandey, A.J. Pitman, Examination of the lignin content in a softwood and a hardwood decayed by a brown-rot fungus with the acetyl bromide method and Fourier transform infrared spectroscopy, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 42 (2004) 2340–2346.
- [280] K. Pandey, A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy, *Journal of Applied Polymer Science*. 71 (1999) 1969–1975.
- [281] Z. Pawlak, A.S. Pawlak, A review of infrared spectra from wood and wood components following treatment with liquid ammonia and solvated electrons in liquid ammonia, *Applied Spectroscopy Reviews*. 32 (1997) 349–383.
- [282] D. Stewart, H.M. Wilson, P.J. Hendra, I.M. Morrison, Fourier-transform infrared and raman spectroscopic study of biochemical and chemical treatments of oak wood (*Quercus rubra*) and barley (*Hordeum vulgare*) straw, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43 (1995) 2219–2225.
- [283] M. Kačuráková, N. Wellner, A. Ebringerová, Z. Hromádková, R.H. Wilson, P.S. Belton, Characterisation of xylan-type polysaccharides and associated cell wall components by FT-IR and FT-Raman spectroscopies, *Food Hydrocolloids*. 13 (1999) 35–41.
- [284] P. Nzokou, D. Pascal Kamdem, X-ray photoelectron spectroscopy study of red oak (*Quercus rubra*), black cherry (*Prunus serotina*) and red pine (*Pinus resinosa*) extracted wood surfaces, *Surface and Interface Analysis*. 37 (2005) 689–694.
- [285] G. Sinn, A. Reiterer, S. Stanzl-Tschegg, Surface analysis of different wood species using X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), *Journal of Materials Science*. 6 (2001) 4673–4680.
- [286] A. Shchukarev, B. Sundberg, E. Mellerowicz, P. Persson, XPS study of living tree, *Surface and Interface Analysis*. 34 (2002) 284–288.
- [287] M. Kazayawoko, J.J. Balatinecz, R.T. Woodhams, R.N.S. Sodhi, X-Ray Photoelectron spectroscopy of lignocellulosic materials treated with maleated polypropylenes, *Journal of Wood Chemistry and Technology*. 18 (1998) 1–26.
- [288] D. Cagniant, P. Magri, R. Gruber, Ammoxidation of cellulose - a structural study, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 65 (2002) 1–23.
- [289] X. Hua, S. Kaliaguine, B.V. Kokta, A. Adnot, Surface analysis of explosion pulps by ESCA, *Wood Science and Technology*. 28 (1993) 1–8.
- [290] T. Haensel, A. Comouth, P. Lorenz, S.I.-U. Ahmed, S. Krischok, N. Zydzia, et al., Pyrolysis of cellulose and lignin, *Applied Surface Science*. 255 (2009) 8183–8189.
- [291] G. Crini, Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review, *Bioresource Technology*. 97 (2006) 1061–1085.

- [292] V.M. Nurchi, I. Villaescusa, Agricultural biomasses as sorbents of some trace metals, *Coordination Chemistry Reviews*. 252 (2008) 1178–1188.
- [293] W.S. Wan Ngah, M.A. K.M. Hanafiah, Removal of heavy metal ions from wastewater by chemically modified plant wastes as adsorbents: a review, *Bioresource Technology*. 99 (2008) 3935–3948.
- [294] M.S. Rodríguez-Cruz, M.S. Andrades, A.M. Parada, M.J. Sánchez-Martín, Effect of different wood pretreatments on the sorption-desorption of linuron and metalaxyl by woods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 (2008) 7339–7346.
- [295] S.H. Min, J.S. Han, E.W. Shin, J.K. Park, Improvement of cadmium ion removal by base treatment of juniper fiber, *Water Research*. 38 (2004) 1289–1295.
- [296] R.C. Sun, J.M. Fang, A. Goodwin, J.M. Lawther, A.J. Bolton, Physico-chemical and structural characterization of alkali lignins from abaca fibre, *Journal of Wood Chemistry and Technology*. 18 (1998) 313–331.
- [297] M.T. González, F. Rodríguez-Reinoso, A.N. García, A. Marcilla, CO<sub>2</sub> activation of olive stones carbonized under different experimental conditions, *Carbon*. 35 (1997) 159–165.
- [298] J.W. Kim, M.H. Sohn, D.S. Kim, S.M. Sohn, Y.S. Kwon, Production of granular activated carbon from waste walnut shell and its adsorption characteristics for Cu<sup>2+</sup> ion, *Journal of Hazardous Materials*. 85 (2001) 301–315.
- [299] A.S. Mestre, J. Pires, J.M.F. Nogueira, A.P. Carvalho, Activated carbons for the adsorption of ibuprofen, *Carbon*. 45 (2007) 1979–1988.
- [300] M.V. López-Ramon, C. Moreno-castilla, F. Carrasco-Marín, M.A. Álvarez-Merino, Chemical and physical activation of olive-mill waste water to produce activated carbons, *Carbon*. 39 (2001) 1415–1420.
- [301] D.C.W. Tsang, J. Hu, M.Y. Liu, W. Zhang, K.C.K. Lai, I.M.C. Lo, Activated carbon produced from waste wood pallets: adsorption of three classes of dyes, *Water, Air, and Soil Pollution*. 184 (2007) 141–155.
- [302] D.J. Ridder, L. Villacorte, R.D. Verliefde, J.Q.J.C. Verberk, S.G.J. Heijman, G.L. Amy, et al., Modeling equilibrium adsorption of organic micropollutants onto activated carbon, *Water Research*. 44 (2010) 3077–3086.
- [303] E.R.V. Dickenson, J.E. Drewes, Quantitative structure property relationships for the adsorption of pharmaceuticals onto activated carbon, *Water Science and Technology*. 62 (2010) 2270–2276.
- [304] J. Rivera-Utrilla, G. Prados-Joya, M. Sánchez-Polo, M.A. Ferro-García, I. Bautista-Toledo, Removal of nitroimidazole antibiotics from aqueous solution by adsorption/bioadsorption on activated carbon, *Journal of Hazardous Materials*. 170 (2009) 298–305.
- [305] L. Ji, W. Chen, L. Duan, D. Zhu, Mechanisms for strong adsorption of tetracycline to carbon nanotubes: a comparative study using activated carbon and graphite as adsorbents, *Environmental Science & Technology*. 43 (2009) 2322–2327.
- [306] D. Qiang, D.E. Wurster, Specific and non-specific interactions of procaine with activated carbon surfaces, *Journal of Colloid and Interface Science*. 358 (2011) 541–546.

- [307] J. Gao, J.A. Pedersen, Adsorption of sulfonamide antimicrobial agents to clay minerals, *Environmental Science & Technology*. 39 (2005) 9509–9516.
- [308] L. Ji, W. Chen, S. Zheng, Z. Xu, D. Zhu, Adsorption of Sulfonamide Antibiotics to Multiwalled Carbon Nanotubes, *Langmuir*. 25 (2009) 11608–11613.
- [309] D. Zhang, B. Pan, H. Zhang, P. Ning, B. Xing, Contribution of different sulfamethoxazole species to their overall adsorption on functionalized carbon nanotubes, *Environmental Science & Technology*. 44 (2010) 3806–3811.
- [310] W. Yang, F. Zheng, X. Xue, Y. Lu, Investigation into adsorption mechanisms of sulfonamides onto porous adsorbents, *Journal of Colloid and Interface Science*. 362 (2011) 503–509.
- [311] M. A. Fontecha-Cámara, M.V. López-Ramón, M.A. Álvarez-Merino, C. Moreno-Castilla, Effect of surface chemistry, solution pH, and ionic strength on the removal of herbicides diuron and amitrole from water by an activated carbon fiber, *Langmuir*. 23 (2007) 1242–1247.
- [312] L. Ji, F. Liu, Z. Xu, S. Zheng, D. Zhu, Adsorption of pharmaceutical antibiotics on template-synthesized ordered micro- and mesoporous carbons, *Environmental Science & Technology*. 44 (2010) 3116–3122.
- [313] D.H. Carrales-Alvarado, R. Ocampo-Pérez, R. Leyva-Ramos, J. Rivera-Utrilla, Removal of the antibiotic metronidazole by adsorption on various carbon materials from aqueous phase, *Journal of Colloid and Interface Science*. 436C (2014) 276–285.
- [314] J. Rivera-Utrilla, M. Sánchez-Polo, G. Prados-Joya, M.A. Ferro-García, I. Bautista-Toledo, Removal of tinidazole from waters by using ozone and activated carbon in dynamic regime, *Journal of Hazardous Materials*. 174 (2010) 880–886.
- [315] S. Baup, C. Jaffre, D. Wolbert, A. Laplanche, Adsorption of pesticides onto granular activated carbon: determination of surface diffusivities using simple batch experiments, *Adsorption*. 6 (2000) 219–228.
- [316] Y.S. Ho, Review of second-order models for adsorption systems, *Journal of Hazardous Materials*. 136 (2006) 681–689.
- [317] C. Gerente, V.K.C. Lee, P. Le Cloirec, G. McKay, Application of chitosan for the removal of metals from wastewaters by adsorption—mechanisms and models review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 37 (2007) 41–127.
- [318] Y.S. Ho, G. McKay, A comparison of chemisorption kinetic models applied to pollutant removal on various sorbents, *Trans IChemE*. 76 (1998) 332–339.
- [319] V.C. Taty-Costodes, H. Fauduet, C. Porte, A. Delacroix, Removal of Cd(II) and Pb(II) ions, from aqueous solutions, by adsorption onto sawdust of *Pinus sylvestris*, *Journal of Hazardous Materials*. 105 (2003) 121–142.
- [320] Y.S. Ho, J.C.Y. Ng, G. McKay, Kinetics of pollutant sorption by biosorbents: review, *Separation and Purification Methods*. 29 (2000) 189–232.
- [321] J.D. Méndez-Díaz, G. Prados-Joya, J. Rivera-Utrilla, R. Leyva-Ramos, M. Sánchez-Polo, M.A. Ferro-García, et al., Kinetic study of the adsorption of nitroimidazole antibiotics on activated carbons in aqueous phase, *Journal of Colloid and Interface Science*. 345 (2010) 481–490.
- [322] D.O. Cooney, *Adsorption design for wastewater treatment*, Lewis Publishers, Boca Raton, 1999.

- [323] J.O.L.E. Roux, A.W. Brysont, B.O. Youngt, A comparison of several kinetic models for the adsorption of gold cyanide onto activated carbon, *Journal of South African Institute of Mining and Metallurgy*. 91 (1991) 95–103.
- [324] A.P. Terzyk, G. Rychlicki, S. Biniak, J.P. Łukaszewicz, New correlations between the composition of the surface layer of carbon and its physicochemical properties exposed while paracetamol is adsorbed at different temperatures and pH, *Journal of Colloid and Interface Science*. 257 (2003) 13–30.
- [325] M.A. Fontecha-Cámara, M. V. López-Ramón, M.A. Álvarez-Merino, C. Moreno-Castilla, Temperature dependence of herbicide adsorption from aqueous solutions on activated carbon fiber and cloth, *Langmuir*. 22 (2006) 9586–9590.
- [326] M. A. Fontecha-Cámara, M.V. López-Ramón, M.A. Álvarez-Merino, C. Moreno-Castilla, About the endothermic nature of the adsorption of the herbicide diuron from aqueous solutions on activated carbon fiber, *Carbon*. 44 (2006) 2335–2338.
- [327] H.Q. Dang, W.E. Price, L.D. Nghiem, The effects of feed solution temperature on pore size and trace organic contaminant rejection by the nanofiltration membrane NF270, *Separation and Purification Technology*. 125 (2014) 43–51.
- [328] D.C. Montgomery, G.C. Runger, *Applied statistics and probability for engineers*, New York, 2010.
- [329] A. Dean, D. Voss, *Design and analysis of experiments*, Springer-Verlag, New York, 1999.
- [330] K.K.H. Choy, J.F. Porter, G. McKay, Single and multicomponent equilibrium studies for the adsorption of acidic dyes on carbon from effluents, (2004) 9646–9656.
- [331] F. Gimbert, N. Morin-Crini, F. Renault, P.M. Badot, G. Crini, Adsorption isotherm models for dye removal by cationized starch-based material in a single component system: error analysis, *Journal of Hazardous Materials*. 157 (2008) 34–46.
- [332] G. Limousin, J. Gaudet, L. Charlet, Sorption isotherms: a review on physical bases, modeling and measurement, *Applied Geochemistry*. 22 (2007) 249–275.
- [333] F. Pagnanelli, F. Beolchini, A. Di Biase, F. Vegliò, Biosorption of binary heavy metal systems onto *Sphaerotilus natans* cells confined in an UF/MF membrane reactor: dynamic simulations by different Langmuir-type competitive models, *Water Research*. 38 (2004) 1055–1061.
- [334] Y. Sag, A. Kaya, T. Kutsal, The simultaneous biosorption of Cu (II) and Zn on *Rhizopus arrhizus*: application of the adsorption models, *Hydrometallurgy*. 50 (1998) 297–314.
- [335] S. Dastgheib, D. Rockstraw, A systematic study and proposed model of the adsorption of binary metal ion solutes in aqueous solution onto activated carbon produced from pecan shells, *Carbon*. 40 (2002) 1853–1861.
- [336] Q. Wu, L. Zhou, J. Wu, Y. Zhou, Adsorption equilibrium of the mixture  $\text{CH}_4 + \text{N}_2 + \text{H}_2$  on activated carbon, *Journal of Chemical & Engineering Data*. 50 (2005) 635–642.
- [337] J. Yesuf, B. DeVantier, L. Chevalier, Bisolute equilibrium studies for the sorption of basic dyes on a GAC from almond shells: a nonlinear approach, *Water, Air, & Soil Pollution: Focus*. (2008) 387–393.

- [338] F. Haghseresht, S. Nouri, G.Q.M. Lu, Effects of carbon surface chemistry and solution pH on the adsorption of binary aromatic solutes, *Carbon*. 41 (2003) 881–892.
- [339] A.N. Módenes, F.R. Espinoza-Quiñones, D.E.G. Trigueros, J.M.T.A. Pietrobelli, F.L. Lavarda, M.A.S.S. Ravagnani, et al., Binary Adsorption of a Zn(II)-Cu(II) Mixture onto *Egeria densa* and *Eichhornia crassipes*: kinetic and equilibrium data modeling by PSO, *Separation Science and Technology*. 47 (2012) 875–885.
- [340] V. Chandra Srivastava, I. Deo Mall, I. Mani Mishra, Modelling individual and competitive adsorption of cadmium(II) and zinc(II) metal ions from aqueous solution onto bagasse fly ash, *Separation Science and Technology*. 41 (2006) 2685–2710.
- [341] V.C. Srivastava, I.D. Mall, I.M. Mishra, Removal of cadmium(II) and zinc(II) metal ions from binary aqueous solution by rice husk ash, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 312 (2008) 172–184.
- [342] P. Monneyron, C. Faur-Brasquet, A. Sakoda, M. Suzuki, P. Le Cloirec, Competitive adsorption of organic micropollutants in the aqueous phase onto activated carbon cloth: comparison of the IAS model and neural networks in modeling data, *Langmuir*. 18 (2002) 5163–5169.
- [343] M.R. Fagundes-Klen, P. Ferri, T.D. Martins, C.R.G. Tavares, E.A. Silva, Equilibrium study of the binary mixture of cadmium–zinc ions biosorption by the *Sargassum filipendula* species using adsorption isotherms models and neural network, *Biochemical Engineering Journal*. 34 (2007) 136–146.
- [344] K. Abburi, Adsorption of phenol and p-chlorophenol from their single and bisolute aqueous solutions on amberlite XAD-16 resin, *Journal of Hazardous Materials*. 105 (2003) 143–156.
- [345] C. Faur, H. El, Multicomponent adsorption of pesticides onto activated carbon fibers, *Adsorption*. 11 (2005) 479–490.
- [346] D. Mohan, S. Chander, Single component and multi-component adsorption of metal ions by activated carbons, 177 (2001) 183–196.
- [347] A.E. Ofomaja, E.I. Unuabonah, N. A. Oladoja, Competitive modeling for the biosorptive removal of copper and lead ions from aqueous solution by *Mansonia wood* sawdust, *Bioresource Technology*. 101 (2010) 3844–3852.



**ANEXOS**





## ANEXO A INFLUÊNCIA DA ESPECIAÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS NAS PROPRIEDADES DE ABSORÇÃO NO UV

A análise da influência da especiação na quantificação dos antibióticos pode ser encarada como um aspeto particular de avaliação da existência de efeito matriz. Efeito de matriz é, tipicamente, um estudo de seletividade que pretende averiguar a ocorrência de possíveis interferências causadas pelas diversas substâncias que compõem a matriz, gerando, basicamente, fenómenos de diminuição ou ampliação do sinal instrumental.

### Calibrações Metronidazol

Com o objetivo de avaliar o efeito da especiação do antibiótico Metronidazol na resposta do detetor prepararam-se calibrações a pH 2, 6, 8 (em tampão) e sem ajuste de pH. Os resultados deste estudo são apresentados na Tabela A.1. Não se observou diferença estatisticamente significativa (a 95 %) entre as curvas de calibração (os declives da curvas de calibração não estatisticamente diferentes se  $t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$  ou  $p\text{-value} \geq 0,05$ ; valores obtidos de  $p\text{-value} \geq 0,25$ ), confirmando-se que a especiação do antibiótico não exerceu influência nas propriedades de absorção no UV.

**Tabela A.1** Parâmetros do estudo de linearidade e limites analíticos obtidos para o antibiótico Metronidazol – Influência do pH.

	Gama de Linearidade ( $\mu\text{g/L}$ )	Declive	Ordenada	$R^2$	LD ( $\mu\text{g/L}$ )	LQ ( $\mu\text{g/L}$ )
pH 2	5 - 500	185930 $\pm$ 3665	- 670 $\pm$ 1029	0,9999	4,0	4,8
pH 6	5 - 500	187786 $\pm$ 1464	- 145 $\pm$ 412	1,0000	1,7	3,9
Sem ajuste de pH (pH ~5,7)	5 - 500	187063 $\pm$ 1103	- 187 $\pm$ 274	1,0000	1,9	4,1
pH 8	5 - 500	187306 $\pm$ 1749	- 228 $\pm$ 491	1,0000	2,1	4,3

Procedeu-se também à validação do procedimento analítico para as diferentes condições de pH, de acordo com os parâmetros já discutidos na secção 1.2 do capítulo III. Os resultados são apresentados na Tabela A.2 e na Tabela A.3, confirmando-se que também do ponto de vista do desempenho analítico, não há diferenças assinaláveis.

**Tabela A.2** Estudo da precisão do método analítico para o antibiótico Metronidazol.

	Repetibilidade (%)			Precisão intermédia (%)		
	5 µg/L	100 µg/L	500 µg/L	5 µg/L	100 µg/L	500 µg/L
pH 2	7,5	0,4	0,4	10	2,3	0,7
pH 6	8,5	0,9	0,3	9,5	0,8	0,6
Sem ajuste de pH (pH ~5,7)	6,4	1,0	0,5	9,3	1,1	0,5
pH 8	7,3	0,9	0,3	10	0,8	0,6

**Tabela A.3** Avaliação da incerteza da metodologia analítica na quantificação do antibiótico Sulfametoxazol.

	Contribuições (%)			Incerteza Combinada ( $u_c$ ) (%)
	$U_{\text{padrões}}$	$U_{\text{calibração}}$	$U_{\text{precisão}}$	
pH 2	7,7 - 59,1	29,8 - 82,1	7,1 - 22,2	1,5 - 34,7
pH 6	9,8 - 75,4	16,0 - 78,8	6,3 - 13,7	1,4 - 26,2
Sem ajuste de pH (pH ~5,7)	9,4 - 73,5	16,7 - 81,1	4,9 - 11,3	1,4 - 28,1
pH 8	8,6 - 72,1	18,3 - 82,8	7,7 - 11,0	1,4 - 31,3

### Calibrações Sulfametoxazol

Para avaliação do efeito da especiação de Sulfametoxazol na resposta instrumental, prepararam-se curvas de calibração para uma gama de pH compreendida entre 2 e 10. Os resultados obtidos estão reunidos na Tabela A.4. A influência do pH das soluções (isto é da especiação) é notória. Observa-se um aumento gradual do declive das curvas de calibração com o aumento do pH (à medida que as formas catiónica, neutra e aniónica se vão sucedendo em solução - o diagrama de especiação pode ser consultado na pág. 43)

**Tabela A.4** Parâmetros do estudo de linearidade e limites analíticos obtidos para o antibiótico Sulfametoxazol – Influência do pH.

	Gama de Linearidade (µg/L)	Declive	Ordenada	$R^2$	LD (µg/L)	LQ (µg/L)
pH 2	5 - 500	260740±3381	- 764±947	0,9999	3,5	4,8
pH 3	5 - 500	262723±2072	- 593±580	1,0000	2,8	4,2
pH 4	5 - 500	270110±3028	- 520±848	0,9999	2,5	3,8
pH 5	5 - 500	285649±5834	- 930±1634	0,9997	3,8	5,0
pH 6	5 - 500	307176±2600	-366±728	0,9999	1,8	3,1
pH 7	5 - 500	321218±1688	-158±473	1,0000	1,1	2,6
pH 8	5 - 500	326577±5040	-808±1412	0,9998	3,0	4,3
pH 10	5 - 500	329880±4047	-684±1134	0,9999	2,6	3,8

As diferenças observadas não são estatisticamente significativas (95 %) para: i) Curvas de calibração a pH 2 e 3 ( $p\text{-value} = 0,23$ ); ii) Curvas de calibração a pH 8 e 10 ( $p\text{-value} = 0,22$ ). Nas restantes condições, as diferenças observadas são estatisticamente significativas (valores obtidos de  $p\text{-value} < 0,05$ ), confirmando-se que a especiação do antibiótico exerce influência nas propriedades de absorção no UV. Em função destes resultados optou-se, sempre, por preparar as curvas de calibração em condições de pH idênticas às usadas nos estudos realizados, incluindo as situações para as quais não se verificou diferença estatística significativa (i e ii).

Procedeu-se também à validação do procedimento analítico para as todas as condições de pH consideradas nos estudos. Os resultados estão reunidos na Tabela A.5 e Tabela A.6. A validação compreendeu a avaliação das características de desempenho descritas na secção 1.2 do capítulo III.

**Tabela A.5** Estudo da precisão do método analítico para o antibiótico Sulfametoxazol.

	Repetibilidade (%)			Precisão intermédia (%)		
	5 µg/L	100 µg/L	500 µg/L	5 µg/L	100 µg/L	500 µg/L
pH 2	7,7	0,5	0,8	10	0,5	0,7
pH 3	8,9	0,4	0,2	11	0,5	0,5
pH 4	6,6	0,9	0,5	5,4	1,0	0,7
pH 5	5,7	0,2	0,4	6,7	0,6	0,6
pH 6	8,0	0,7	0,6	9,2	2,0	0,9
pH 7	2,5	0,2	0,7	9,2	0,8	1,5
pH 8	6,1	0,7	1,4	6,7	0,8	1,7
pH 10	7,5	0,9	0,8	8,9	1,5	0,9

**Tabela A.6** Avaliação da incerteza da metodologia analítica na quantificação do antibiótico Sulfametoxazol.

	Contribuições (%)			Incerteza Combinada ( $u_c$ ) (%)
	$u_{\text{padrões}}$	$u_{\text{calibração}}$	$u_{\text{precisão}}$	
pH 2	9,3 - 69,4	16 - 80,5	10,2 - 14,6	1,4 - 43,0
pH 3	9,8 - 75,3	16,1 - 79,4	3,3 - 10,8	1,4 - 26,6
pH 4	7,7 - 71,8	17,0 - 88,3	4,0 - 12,8	1,4 - 37,3
pH 5	8,3 - 58,6	32,4 - 86,2	2,0 - 8,9	1,5 - 33,7
pH 6	9,3 - 69,4	16,0 - 80,5	10,2 - 24,1	1,4 - 28,3
pH 7	14,1 - 71,4	9,3 - 76,5	3,7 - 25,8	1,4 - 17,9
pH 8	6,0 - 60,6	23,7 - 88,6	3,3 - 20,0	1,5 - 42,1
pH 10	7,0 - 64,8	19,3 - 88,4	3,7 - 23,0	1,5 - 40,8

O processo de validação permitiu demonstrar que o método de análise, para todas as condições de pH consideradas, apresentou as características necessárias para a obtenção de resultados com a qualidade exigida, de acordo com critérios de desempenho considerados e já discutidos na secção 1.2 do capítulo III. O desempenho do método analítico foi, como é possível constatar pelos resultados reunidos nas tabelas, similar.

**ANEXO B CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE CASCA DE NOZ TRATADOS QUIMICAMENTE**

As características químicas e texturais das amostras de casca de noz, modificadas quimicamente, foram avaliadas por termogravimetria, XPS e porosimetria de mercúrio. Os principais resultados, do conjunto de análise efetuadas, estão reunidos nas tabelas seguintes.

**Tabela B.1** Análise imediata das amostras de casca de noz modificadas quimicamente (em base seca).

	<b>Voláteis</b> (%)	<b>C<sub>fixo</sub></b> (%)	<b>Cinzas</b> (%)	<b>ε<sub>Total</sub></b> (%)
Casca Noz - HCl	91,99	6,13	0,01	18,4±1,0
Casca Noz - NaOH	86,38	11,93	0,72	14,6±0,6

**Tabela B.2** Análise da composição à superfície da casca de noz obtida por XPS e valor de pH<sub>pcz</sub>.

	pH <sub>pcz</sub>	O/C	Classes de ligação C1s (%)			
			C1	C2	C3	C4
			(C-C/C-H)	(C-OH/C-O-C)	(C=O/O-C-O)	(COOH/COOR)
Casca Noz - HCl	3,5±0,3	0,53	32,4	46,6	14,8	5,5
Casca Noz - NaOH	5,3±0,3	0,56	30,1	50,9	14,4	4,6

Carbono C1 - Carbono ligado a um átomo de carbono ou hidrogénio (energia de ligação 285,0 eV)  
Carbono C2 - Carbono ligado a átomos de oxigénio não carbonilo (energia de ligação 286,5 eV)  
Carbono C3 - Carbono do grupo carbonilo ou ligado a dois átomos de oxigénio não carbonilo (energia de ligação 287,9 eV)  
Carbono C4 - Carbono do grupo carboxilo ou éster (energia de ligação 289,2 eV)

**Tabela B.3** Propriedades físicas das amostras de casca de noz modificadas quimicamente.

	<b>Área<sub>Hg</sub></b> (m <sup>2</sup> /g)	<b>V<sub>macroporos</sub></b> (cm <sup>3</sup> /g)	<b>V<sub>mesoporos</sub></b> (cm <sup>3</sup> /g)	<b>ε<sub>Total</sub></b> (%)	<b>ε<sub>Teórica</sub></b> (%)
Casca Noz - HCl	12,6±0,5	0,1131±0,004	0,0231±0,011	18,4±1,0	19,6±0,6
Casca Noz - NaOH	9,1±1,7	0,0813±0,021	0,0181±0,025	14,6±0,6	14,1±1,0

## ANEXO C PRODUÇÃO DE CARVÃO ATIVADO

1. Plano Experimental 2<sup>2</sup>

Reúnem-se neste anexo informações mais detalhadas sobre a modelação matemática e respetiva validação dos ajustes realizados (secção 3.2 do capítulo III). Na análise dos resultados, procurou-se identificar, com recurso ao *software JMP 5.0.1*, o modelo que melhor relaciona as variáveis independentes e de resposta, sendo inicialmente considerado o modelo completo (efeitos e interação entre efeitos). Tendo-se verificado que, quer o efeito razão de impregnação, quer a interação entre o efeito temperatura/razão de impregnação, não eram estatisticamente significativos foi apenas considerado, nos ajustes subsequentes, o efeito do fator temperatura e razão de impregnação. Apresentam-se, nas tabelas seguintes, os resultados relativos aos parâmetros dos modelos ajustados e a respetiva análise da qualidade dos ajustes (análise de variância (ANOVA)), teste de falta de ajuste (*lack-of-fit test*).

**Tabela C.1** Parâmetros obtidos para os modelos de 1ª ordem ajustados aos sistemas em estudo.

	Metronidazol		Sulfametoxazol	
	Coefficiente	<i>p-value</i>	Coefficiente	<i>p-value</i>
$\beta_0$	63,5±4,6	1,0E-3	63,3±5,9	2,0E-3
$\beta_1$	38,1±5,6	7,0E-3	33,3±7,2	1,9E-2
$\beta_2$	2,4±5,6	0,70	2,4±7,2	0,76
$R^2$	0,9393		0,8770	
Falta de ajuste <i>p-value</i>	0,27		0,0057	

**Tabela C.2** Análise de variância e teste de *Falta de Ajuste* para o modelo ajustado aos ensaios relativos ao antibiótico Metronidazol.

Fonte de variação	g.l.	SS	MS	$F_{cal}$	<i>p-value</i>	
Modelo	2	5837,7	2918,8	23,2	<b>1,5x10<sup>-2</sup></b>	$R^2 = 0,9393$
Erro	3	377,5	125,8			$R^2_{ajd} = 0,8988$
Total	5	6215,2				RMSE = 11,2
Falta de Ajuste	2	349,4	174,7	6,2	<b>0,27</b>	
Erro Puro	1	28,1	28,1			
Erro Total	3	377,5				

**Tabela C.3** Análise de variância e teste de *Falta de Ajuste* para o modelo ajustado aos ensaios relativos ao antibiótico Sulfametoxazol.

Fonte de variação	g.l.	SS	MS	F <sub>cal</sub>	p-value	
Modelo	2	4465,7	2232,9	10,7	<b>4,3x10<sup>-2</sup></b>	R <sup>2</sup> = 0,8770
Erro	3	626,2	208,7			R <sup>2</sup> <sub>ajd</sub> = 0,7950
Total	5	5091,9				RMSE = 14,4
Falta de Ajuste	2	626,2	313,1	15654	<b>5,7x10<sup>-3</sup></b>	
Erro Puro	1	0,02	0,02			
Erro Total	3	626,2				

A análise de variância confirma, para os dois modelos ajustados, que a variância associada ao modelo é superior à variância observada para o erro experimental. Os valores de *p-value* são de 1,5x10<sup>-2</sup> e 4,3x10<sup>-2</sup> para Metronidazol e Sulfametoxazol, respetivamente (um modelo é considerado adequado, isto é, pelo menos um dos coeficientes é significativamente diferente de zero ou pelo menos um dos parâmetros do modelo é significativo, para *p-value* ≤ 0,05). O *Teste-F*, para a falta de ajuste, confirma que a dispersão dos valores experimentais face ao modelo (variância de falta de ajuste) e a dispersão observada para as réplicas (variância do erro puro) não são estatisticamente diferentes (*p-value* ≥ 0,05) para Metronidazol (podendo assim considerar-se que o modelo representa adequadamente os resultados experimentais), mas já não se verifica para Sulfametoxazol. Esta análise está, contudo, condicionada pelo reduzido número de réplicas (dois ensaios para o ponto central).

## 2. Caracterização – Área específica (Modelo BET)

Obtida a isoterma de adsorção de azoto a 77 K (Figura C.1), a área superficial específica foi determinada, pelo *software* do equipamento por ajuste linear da curva de  $\frac{P}{V_a(P_0-P)}$  em função de  $P/P_0$  de acordo com o proposto pelo modelo BET. A área específica foi determinada pela equação C.2, utilizando-se a capacidade da monocamada ( $V_m$ ) obtido através do ajuste dos dados experimentais ao modelo de BET, traduzido pela equação C.1 e aplicado na gama de linearidade  $P/P_0$  compreendida entre 0,05 e 0,3.

$$\frac{P}{V_a(P_0-P)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{(C-1)}{V_m C} \frac{P}{P_0}$$

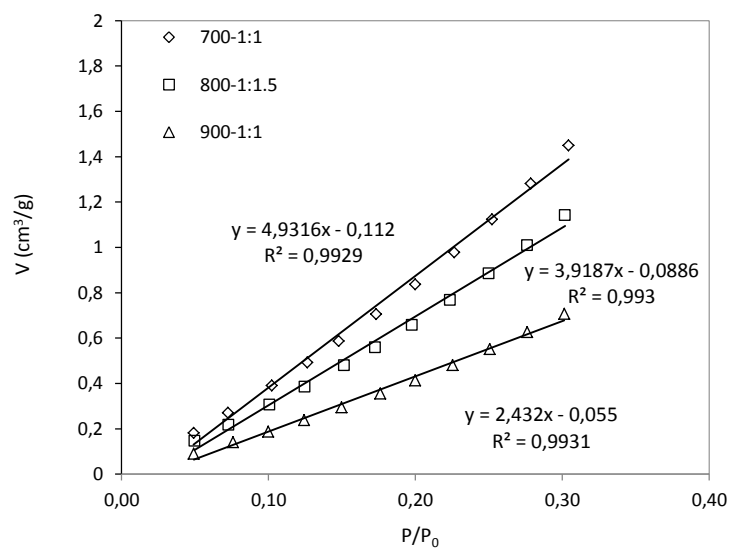
$V_a$  - Volume adsorvido de N<sub>2</sub> à pressão P  
 $V_m$  - Volume da monocamada  
 $P_0$  - Pressão de saturação  
 C - Constante

**Equação C.1**

$$A_{BET} = \frac{N_A V_m \rho A}{M}$$

$N_A$  - Constante de Avogadro  
 $V_m$  - Volume da monocamada  
 $\rho$  - Massa volúmica N<sub>2</sub> (0,8076 g/cm<sup>3</sup>)  
 $A$  - Área de uma molécula de N<sub>2</sub> (1,6x10<sup>-19</sup> m<sup>2</sup>)  
 $M$  - Massa Molar N<sub>2</sub> (28,01 g/mol)

**Equação C.2**



**Figura C.1** Ajuste linear da isotérmica de BET aos dados experimentais obtidos para os carvões ativados produzidos.

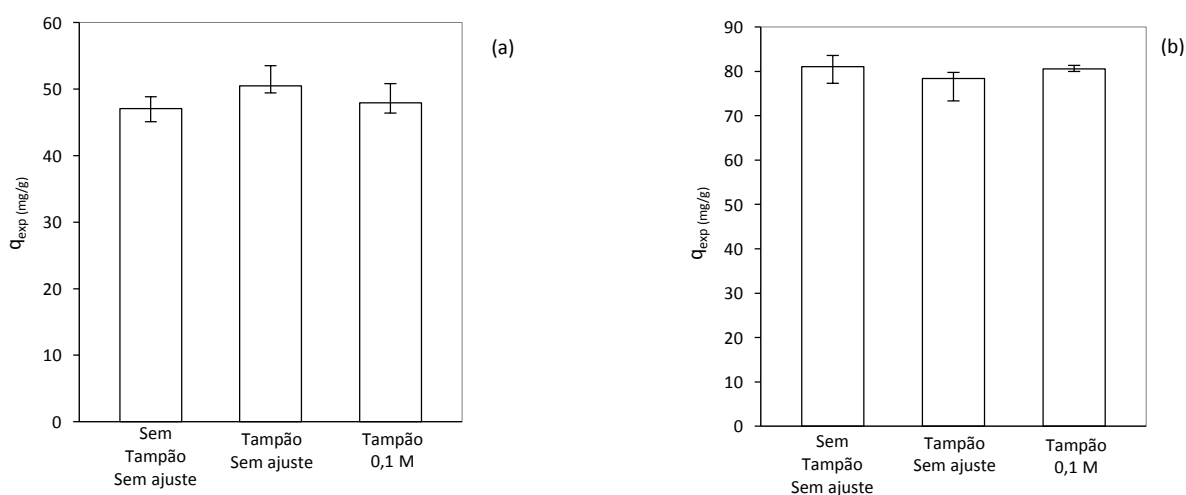
## ANEXO D ENSAIOS PRELIMINARES – FORÇA IÔNICA

A influência da força iônica, a par da exercida pelo pH, foi objeto de avaliação através da realização de um conjunto de ensaios prévios. Pela importância que ambos os parâmetros podem exercer na remoção de compostos orgânicos de natureza ionizável, era importante, para a orientação dos estudos subsequentes e, muito particularmente, para a definição de condições operatórias, conhecer a extensão do seu efeito. Procurou-se avaliar, quer o efeito da força iônica por adição de um sal (NaCl), mas igualmente o recurso a soluções tampão (citrato e fosfato) para ajuste e controlo do pH, na eficiência de remoção dos antibióticos.

Realizaram-se ensaios para três valores de pH, 2, 6 e 8 e com duas forças iônicas, 0,05 e 0,1 M e sem ajuste de força iônica. Os ensaios foram realizados para duas concentrações de antibiótico, 5 e 40 mg/L a 20 °C. As Figuras D.1 a D.4 resumem os resultados obtidos. Os dados, de cada conjunto de ensaios, foram analisados por meio da ferramenta estatística ANOVA (disponibilizada pelo *Excel*), não se verificando, para nenhum dos casos analisados, a existência de diferenças significativas (para um nível de confiança de 95 %). O resultado desta análise encontra-se nas Tabelas D.1 a D.4.

### Ensaio a pH 2

Executaram-se três tipos de ensaios: (i) solução sem ajuste da força iônica e ajuste de pH com solução de HCl, (ii) solução, sem ajuste da força iônica, preparada em tampão citrato de concentração 20 mM (força iônica devida ao tampão 0,002 M); (iii) solução de força iônica 0,1 M (ajustada por adição de NaCl), preparada em tampão citrato de concentração 20 mM.



**Figura D.1** Influência da força iônica na remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) a pH 2.

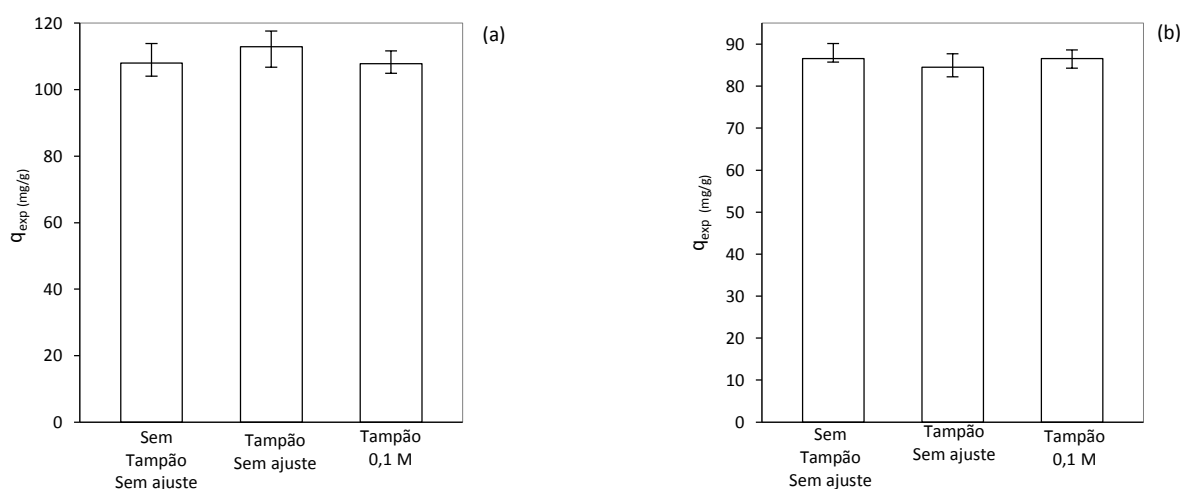


**Tabela D.1** Análise ANOVA aos resultados do estudo da influência da força iônica na remoção de Metronidazol e Sulfametoxazol, a pH 2.

Metronidazol						
Grupo	Contagem		Soma	Média	Variação	
Sem tampão - Sem ajuste	3		141,2	47,1	3,5	
Tampão - Sem ajuste	3		151,4	50,5	7,3	
Tampão - 0,1 M	3		143,8	47,9	6,3	
Fonte de Variação	SQ	g.l.	MQ	F <sub>cal</sub>	valor p	F <sub>cri</sub>
Entre grupos	18,9	2	9,5	1,7	0,3	5,1
Dentro de grupos	34,3	6	5,7			
Total	53,2	8				
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> - Não há diferença estatística significativa*						
Sulfametoxazol						
Grupo	Contagem		Soma	Média	Variação	
Sem tampão - Sem ajuste	3		243,1	81,0	10,9	
Tampão - Sem ajuste	3		235,3	78,4	21,0	
Tampão - 0,1 M	3		241,8	80,6	0,5	
Fonte de Variação	SQ	g.l.	MQ	F <sub>cal</sub>	valor p	F <sub>cri</sub>
Entre grupos	11,7	2	5,8	0,5	0,6	5,1
Dentro de grupos	64,7	6	10,8			
Total	76,4	8				
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> - Não há diferença estatística significativa*						

### Ensaio a pH 8

Executaram-se três tipos de ensaios: (i) solução sem ajuste da força iônica e ajuste de pH com solução de NaOH, (ii) solução, sem ajuste da força iônica, preparada em tampão citrato de concentração 20 mM (força iônica devida ao tampão 0,06 M); (iii) solução de força iônica 0,1 M (ajustada por adição de NaCl), preparada em tampão citrato de concentração 20 mM.



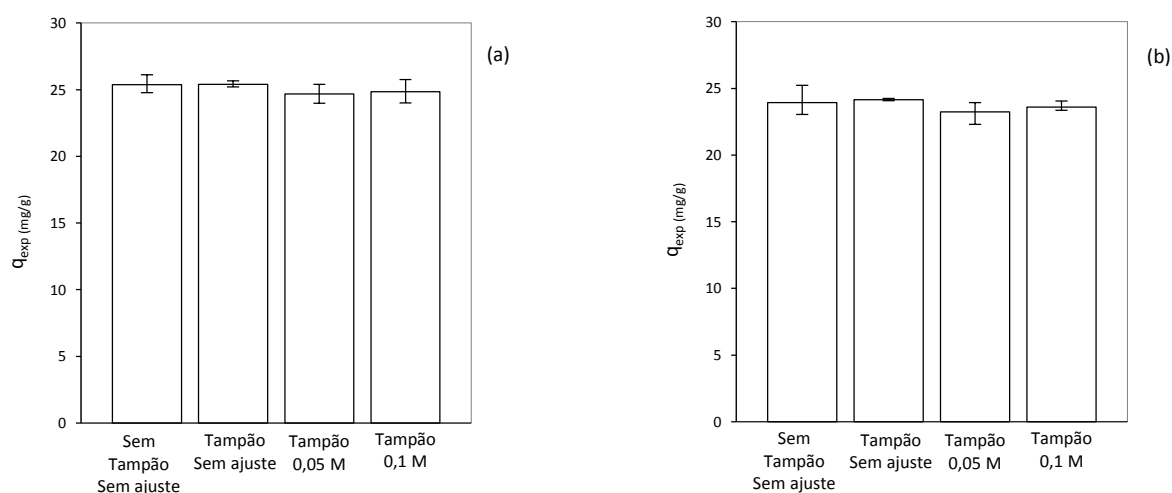
**Figura D.2** Influência da força iônica na remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) a pH 8.

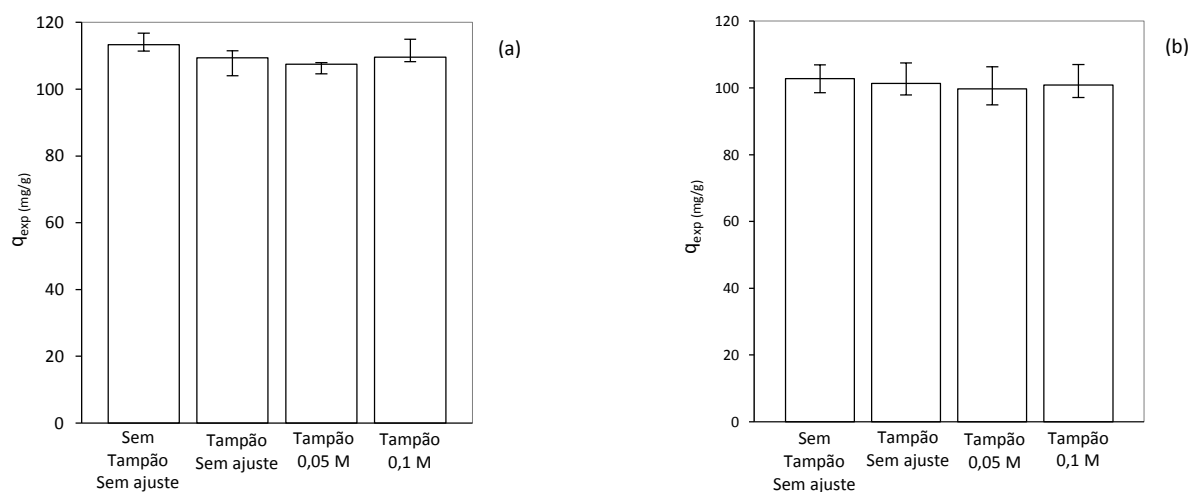
**Tabela D.2** Análise ANOVA aos resultados do estudo da influência da força iônica na remoção de Metronidazol e Sulfametoxazol, a pH 8.

Metronidazol						
Grupo	Contagem	Soma	Média	Variação		
Sem tampão - Sem ajuste	3	323,9	108,0	27,3		
Tampão - Sem ajuste	3	338,6	112,9	31,2		
Tampão - 0,1 M	3	323,5	107,8	12,2		
Fonte de Variação	SQ	g.l.	MQ	F <sub>cal</sub>	valor p	F <sub>cri</sub>
Entre grupos	49,4	2	24,7	1,0	0,4	5,1
Dentro de grupos	141,6	6	23,6			
Total	190,0	8				
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> - Não há diferença estatística significativa*						
Sulfametoxazol						
Grupo	Contagem	Soma	Média	Variação		
Sem tampão - Sem ajuste	3	259,6	86,5	16,2		
Tampão - Sem ajuste	3	235,3	84,5	22,7		
Tampão - 0,1 M	3	259,8	86,6	13,9		
Fonte de Variação	SQ	g.l.	MQ	F <sub>cal</sub>	valor p	F <sub>cri</sub>
Entre grupos	8,5	2	4,3	0,2	0,8	5,1
Dentro de grupos	105,6	6	17,6			
Total	114,1	8				
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> - Não há diferença estatística significativa*						

### Ensaio a pH 6

Executaram-se quatro tipos de ensaios: (i) solução sem ajuste da força iônica e ajuste de pH com solução de HCl (ii) solução, sem ajuste da força iônica, preparada em tampão citrato de concentração 20 mM (força iônica devida ao tampão 0,03 M); (iii) solução de força iônica 0,05 M (ajustada por adição de NaCl), preparada em tampão citrato de concentração 20 mM; (iv) solução de força iônica 0,1 M (ajustada por adição de NaCl), preparada em tampão citrato de concentração 20 mM.

**Figura D.3** Influência da força iônica na remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) a pH 6 e para uma concentração inicial de 5 mg/L.



**Figura D.4** Influência da força iônica na remoção de Metronidazol (a) e Sulfametoxazol (b) a pH 6 e para uma concentração inicial de 40 mg/L.

**Tabela D.3** Análise ANOVA aos resultados do estudo da influência da força iônica na remoção de Metronidazol e Sulfametoxazol, a pH 6 e para uma concentração inicial de 5 mg/L.

Metronidazol						
Grupo	Contagem		Soma	Média	Variância	
Sem tampão - Sem ajuste	3		76,2	25,4	0,5	
Tampão - Sem ajuste	3		76,2	25,4	0,1	
Tampão - 0,05 M	3		74,0	24,8	0,5	
Tampão - 0,1 M	3		74,5	25,4	0,8	
Fonte de Variação	SQ	g.l.	MQ	F <sub>cal</sub>	valor p	F <sub>cri</sub>
Entre grupos	1,2	3	0,4	0,9	0,4	4,1
Dentro de grupos	3,6	8	0,5			
Total	4,8	11				
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> - Não há diferença estatística significativa*						
Sulfametoxazol						
Grupo	Contagem		Soma	Média	Variância	
Sem tampão - Sem ajuste	3		71,8	23,9	1,3	
Tampão - Sem ajuste	3		72,5	24,2	0,02	
Tampão - 0,05 M	3		69,7	23,2	0,7	
Tampão - 0,1 M	3		70,8	23,6	0,2	
Fonte de Variação	SQ	g.l.	MQ	F <sub>cal</sub>	valor p	F <sub>cri</sub>
Entre grupos	1,5	3	0,5	0,9	0,5	4,1
Dentro de grupos	4,4	8	0,5			
Total	5,8	11				
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> - Não há diferença estatística significativa*						

**Tabela D.4** Análise ANOVA aos resultados do estudo da influência da força iônica na remoção de Metronidazol e Sulfametoxazol, a pH 6 e para uma concentração inicial de 40 mg/L.

Metronidazol						
Grupo	Contagem		Soma	Média	Variação	
Sem tampão - Sem ajuste	3		339,9	113,3	3,0	
Tampão - Sem ajuste	3		328,2	109,4	22,1	
Tampão - 0,05 M	3		322,5	107,5	21,2	
Tampão - 0,1 M	3		328,7	109,6	25,9	
Fonte de Variação	SQ	g.l.	MQ	F <sub>cal</sub>	valor p	F <sub>cri</sub>
Entre grupos	53,4	3	17,8	1,0	0,4	4,1
Dentro de grupos	144,3	8	18,0			
Total	197,7	11				
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> - Não há diferença estatística significativa*						
Sulfametoxazol						
Grupo	Contagem		Soma	Média	Variação	
Sem tampão - Sem ajuste	3		308,5	102,8	17,4	
Tampão - Sem ajuste	3		304,0	101,3	28,7	
Tampão - 0,05 M	3		299,2	99,7	28,2	
Tampão - 0,1 M	3		302,7	100,9	35,1	
Fonte de Variação	SQ	g.l.	MQ	F <sub>cal</sub>	valor p	F <sub>cri</sub>
Entre grupos	14,6	3	4,9	0,2	0,9	4,1
Dentro de grupos	218,9	8	27,4			
Total	233,5	11				
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> - Não há diferença estatística significativa*						

## ANEXO E ESTUDOS CINÉTICOS

## Modelos de Reação – Pseudo 1ª e 2ª Ordem

Nas Tabelas E.1 a E.4 estão reunidos os parâmetros obtidos para os ajustes dos modelos cinéticos. Incluem-se também os parâmetros estatísticos que permitem avaliar a qualidade dos ajustes na representação dos dados experimentais (coeficiente de determinação ( $R^2$ ), o erro padrão (RMSE) e o *Teste-F* para comparação das variâncias residuais (MSE)).

**Tabela E.1** Parâmetros de ajuste dos modelos de pseudo-1ª ordem e pseudo-2ª ordem e respectiva análise estatística para o antibiótico Metronidazol – Influência do pH.

	Pseudo-1ª ordem		Pseudo-2ª ordem	
	Q <sub>eq</sub> (mg.g <sup>-1</sup> )	k <sub>1</sub> .10 <sup>3</sup> (min <sup>-1</sup> )	Q <sub>eq</sub> (mg.g <sup>-1</sup> )	k <sub>2</sub> .10 <sup>4</sup> (g.mg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )
pH 2	13,4±1,0	2,9±0,7	14,5±0,7	2,6±0,5
R <sup>2</sup>	0,9540		0,9895	
SSE	12,2		3,4	
MSE	0,9		0,3	
RMSE	1,0		0,5	
g.l.	13		13	
F <sub>calculado</sub> = 3,6; F <sub>crítico</sub> = 3,1 » F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> » Não há diferença estatística significativa*				
pH 6	23,4±0,3	3,8±0,1	25,5±1,5	1,9±0,5
R <sup>2</sup>	0,9991		0,9802	
SSE	0,8		17,1	
MSE	0,07		1,4	
RMSE	0,3		1,2	
g.l.	12		12	
F <sub>calculado</sub> = 21,3; F <sub>crítico</sub> = 3,3 » F <sub>cal</sub> > F <sub>cri</sub> » Há diferença estatística significativa*				
pH 8	23,4±0,1	3,6±0,6	25,4±1,1	1,9±0,4
R <sup>2</sup>	0,9998		0,9887	
SSE	0,2		10,9	
MSE	0,02		0,8	
RMSE	0,1		0,9	
g.l.	13		13	
F <sub>calculado</sub> = 53,4; F <sub>crítico</sub> = 3,1 » F <sub>cal</sub> > F <sub>cri</sub> » Há diferença estatística significativa*				

**Tabela E.2** Parâmetros de ajuste dos modelos de pseudo-1ª ordem e pseudo-2ª ordem e respectiva análise estatística para o antibiótico Sulfametoxazol – Influência do pH.

	Pseudo-1ª ordem		Pseudo-2ª ordem	
	q <sub>eq</sub> (mg.g <sup>-1</sup> )	k <sub>1</sub> .10 <sup>3</sup> (min <sup>-1</sup> )	q <sub>eq</sub> (mg.g <sup>-1</sup> )	k <sub>2</sub> .10 <sup>4</sup> (g.mg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )
pH 2	23,3±0,5	2,0±0,1	26,0±0,7	0,9±0,1
R <sup>2</sup>	0,9969		0,9969	
SSE	3,5		3,3	
MSE	0,3		0,3	
RMSE	0,5		0,5	
g.l.	13		13	
F <sub>calculado</sub> = 1,1; F <sub>crítico</sub> = 3,1 » F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> » Não há diferença estatística significativa*				
pH 6	25,7±0,2	3,0±0,07	28,3±1,4	1,3±0,3
R <sup>2</sup>	0,9997		0,9879	
SSE	0,4		13	
MSE	0,03		1,1	
RMSE	0,2		1,0	
g.l.	12		12	
F <sub>calculado</sub> = 35,0; F <sub>crítico</sub> = 3,3 » F <sub>cal</sub> > F <sub>cri</sub> » Há diferença estatística significativa*				
pH 8	25,1±0,5	2,3±0,2	27,4±0,5	1,1±0,09
R <sup>2</sup>	0,9968		0,9980	
SSE	4,5		2,7	
MSE	0,3		0,2	
RMSE	0,6		0,4	
g.l.	14		14	
F <sub>calculado</sub> = 1,6; F <sub>crítico</sub> = 3,0 » F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> » Não há diferença estatística significativa*				

**Tabela E.3** Parâmetros de ajuste dos modelos de pseudo-1ª ordem e pseudo-2ª ordem e respectiva análise estatística para o antibiótico Metronidazol – Influência da temperatura.

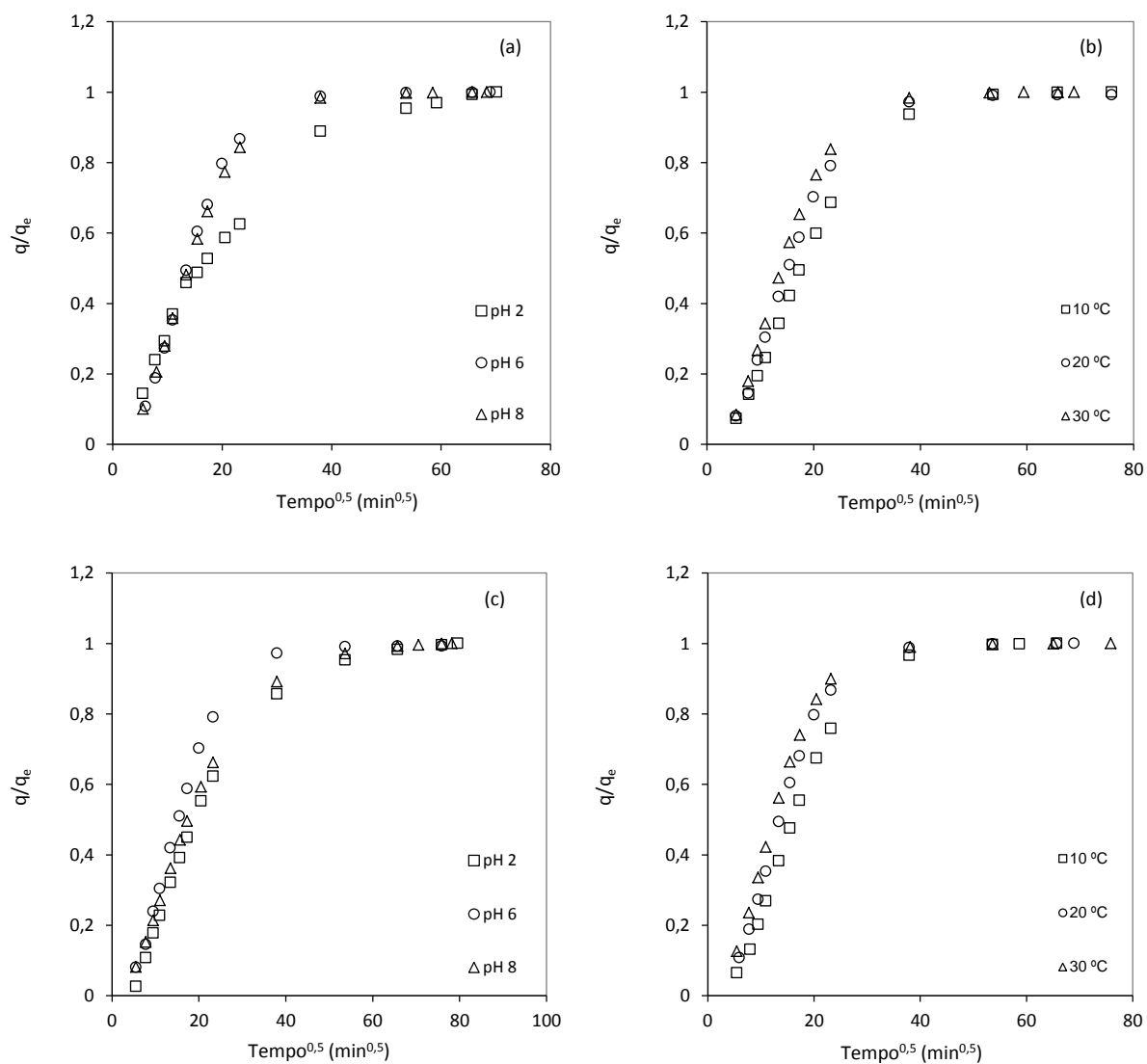
	Pseudo-1ª ordem		Pseudo-2ª ordem	
	Q <sub>eq</sub> (mg.g <sup>-1</sup> )	k <sub>1</sub> .10 <sup>3</sup> (min <sup>-1</sup> )	Q <sub>eq</sub> (mg.g <sup>-1</sup> )	k <sub>2</sub> .10 <sup>4</sup> (g.mg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )
10 °C	24,0±0,3	2,6±0,08	26,9±1,4	1,2±0,2
R <sup>2</sup>	0,9994		0,9894	
SSE	0,6		9,9	
MSE	0,05		0,8	
RMSE	0,2		0,9	
g.l.	12		12	
F <sub>calculado</sub> = 15,7; F <sub>crítico</sub> = 3,3 » F <sub>cal</sub> > F <sub>cri</sub> » Há diferença estatística significativa*				
20 °C	23,4±0,3	3,8±0,1	25,5±1,5	1,9±0,5
R <sup>2</sup>	0,9991		0,9802	
SSE	0,8		17,1	
MSE	0,07		1,4	
RMSE	0,3		1,2	
g.l.	12		12	
F <sub>calculado</sub> = 21,3; F <sub>crítico</sub> = 3,3 » F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> » Há diferença estatística significativa*				
30 °C	24,4±0,1	4,5±0,08	26,4±1,3	2,3±0,5
R <sup>2</sup>	0,9998		0,9838	
SSE	0,2		14,5	
MSE	0,02		1,2	
RMSE	0,1		1,1	
g.l.	12		12	
F <sub>calculado</sub> = 68,7; F <sub>crítico</sub> = 3,3 » F <sub>cal</sub> > F <sub>cri</sub> » Há diferença estatística significativa*				

**Tabela E.4** Parâmetros de ajuste dos modelos de pseudo-1ª ordem e pseudo-2ª ordem e respectiva análise estatística para o antibiótico Sulfametoxazol – Influência da temperatura.

	Pseudo-1ª ordem		Pseudo-2ª ordem	
	$Q_{eq}$ (mg.g <sup>-1</sup> )	$k_1 \cdot 10^3$ (min <sup>-1</sup> )	$Q_{eq}$ (mg.g <sup>-1</sup> )	$k_2 \cdot 10^4$ (g.mg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )
10 °C	26,7±0,3	2,3±0,08	29,8±1,1	0,9±0,1
R <sup>2</sup>		0,9993		0,9949
SSE		0,9		6,3
MSE		0,07		0,5
RMSE		0,3		0,7
g.l.		12		12
$F_{calculado} = 7,3; F_{crítico} = 3,3 \gg F_{cal} > F_{cri} \gg$ Há diferença estatística significativa*				
20 °C	25,7±0,2	3,0±0,07	28,3±1,4	1,3±0,3
R <sup>2</sup>		0,9997		0,9879
SSE		0,4		13
MSE		0,03		1,1
RMSE		0,2		1,0
g.l.		12		12
$F_{calculado} = 35,0; F_{crítico} = 3,3 \gg F_{cal} > F_{cri} \gg$ Há diferença estatística significativa*				
30 °C	27,4±0,2	3,5±0,08	29,8±1,3	1,5±0,5
R <sup>2</sup>		0,9997		0,9874
SSE		0,5		16,8
MSE		0,04		1,3
RMSE		0,2		1,1
g.l.		13		13
$F_{calculado} = 34,4; F_{crítico} = 3,1 \gg F_{cal} > F_{cri} \gg$ Há diferença estatística significativa*				

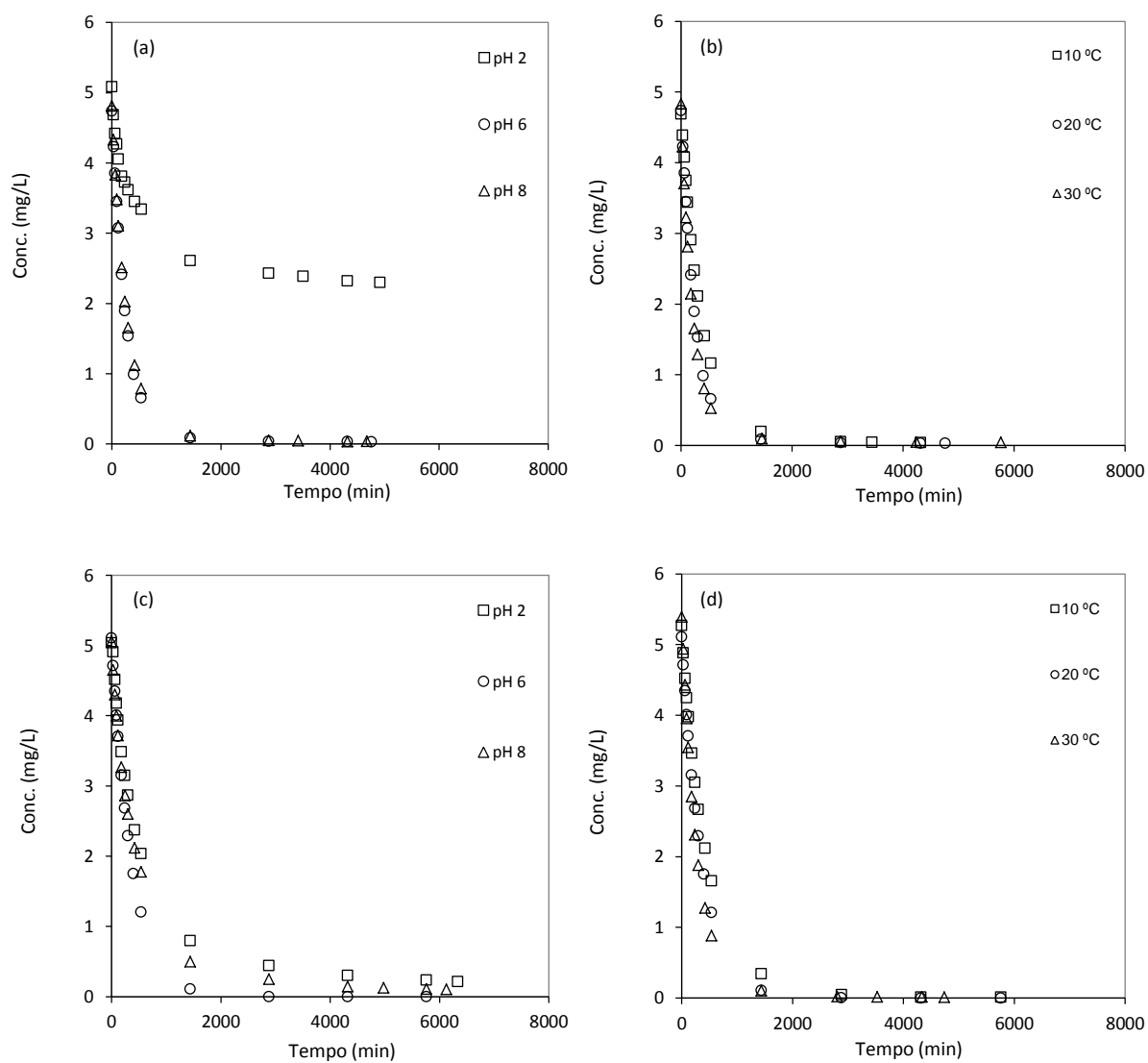
#### Avaliação da Resistência Interna e Externa – Modelos de Difusão

Na avaliação das resistências interna e externa à transferência de massa foram considerados os modelos de difusão homogênea no sólido (MDHS – equação 10, pág. 104) e de difusão no filme externo (equação 7, pág. 104). A difusividade  $D$  (m<sup>2</sup>.min<sup>-1</sup>) foi calculada por ajuste linear dos dados experimentais relativos aos momentos iniciais da curva de sorção para os quais a condição  $q/q_{eq} < 0,3$  é obedecida. O coeficiente de transferência de massa externo (no filme),  $k_f$  (m.min<sup>-1</sup>) foi estimado por ajuste não-linear dos dados experimentais relativos aos primeiros 60 minutos da cinética. Reúnem-se nas Figuras E.1 e E.2 as representações gráficas de  $q/q_e$  vs.  $t^{1/2}$  (difusão interna) e de Conc vs.  $t$  (difusão externa) para a duração total dos ensaios.



**Figura E.1** Representação  $q/q_e$  vs  $t^{1/2}$  dos dados cinéticos para os antibióticos Metronidazol (a e b) e Sulfametoxazol (c e d) – difusão interna.





**Figura E.2** Representação do perfil da concentração vs. tempo para os antibióticos Metronidazol (a e b) e Sulfametoxazol (c e d) – difusão externa.

**ANEXO F DESENHO EXPERIMENTAL BOX-BEHNKEN**

Reúnem-se neste anexo informações mais detalhadas sobre a modelação matemática e respetiva validação dos ajustes (secção 4.3.1 do capítulo III). Na análise dos resultados procurou-se identificar, com recurso ao *software JMP 5.0.1*, o modelo que melhor relaciona as variáveis independentes e de resposta, sendo inicialmente considerado o modelo quadrático completo (equação F.1) e posteriormente avaliada a necessidade de excluir efeitos ou interações (modelos quadráticos reduzidos). A qualidade dos modelos ajustados foi avaliada através da análise dos resíduos e da variância (ANOVA), teste de falta de ajuste (*lack-of-fit test*) e coeficientes de determinação.

$$\hat{y} = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad \text{Equação F. 1}$$

**Modelo Quadrático Completo**

Nas Tabela F.1 até à Tabela F.3 apresentam-se os resultados relativos ao ajuste preliminar (modelo quadrático completo). Este ajuste permitiu avaliar de entre os efeitos previstos pelo modelo (Equação F.1) quais os significativos.

**Tabela F.1** Parâmetros obtidos para os modelos quadráticos completos ajustados aos sistemas em estudo.

	Metronidazol		Sulfametoxazol	
	Coeficiente	<i>p-value</i>	Coeficiente	<i>p-value</i>
$\beta_0$	85,4±4,3	3,7E-29	92,2±3,8	6,7E-32
$\beta_1$	28,6±2,1	1,0E-23	4,2±1,9	7,9E-05
$\beta_2$	6,7±2,1	3,5E-07	11,3±1,9	1,4E-13
$\beta_3$	11,3±2,1	3,3E-12	7,1±1,9	8,7E-09
$\beta_{12}$	1,5±3,0	<b>0,33<sup>1</sup></b>	0,1±2,7	<b>0,93<sup>1</sup></b>
$\beta_{13}$	5,5±3,0	8,2E-04	-1,5±2,7	<b>0,26<sup>1</sup></b>
$\beta_{23}$	5,2±3,0	1,4E-03	8,1±2,7	6,3E-07
$\beta_{11}$	-15,5±3,4	1,1E-10	-12,7±3,0	6,9E-10
$\beta_{22}$	1,6±3,4	<b>0,34<sup>1</sup></b>	-6,3±3,0	1,6E-04
$\beta_{33}$	-1,8±3,4	<b>0,28<sup>1</sup></b>	-5,9±3,0	3,1E-04
$R^2$	0,9697		0,9171	
Falta de ajuste <i>p-value</i>	0,20		0,15	

<sup>1</sup>A negrito destacam-se os termos não significativos do modelo matemático

**Tabela F.2** Análise de variância e teste de *Falta de Ajuste* para o modelo quadrático completo – Metronidazol.

Fonte de variação	g.l.	SS	MS	F <sub>cal</sub>	p-value	
Modelo	9	26954,4	2994,9	113,9	<b>1,0E-21</b>	R <sup>2</sup> = 0,9697
Erro	32	841,8	26,3			R <sup>2</sup> <sub>ajd</sub> = 0,9612
Total	41	27796,2				RMSE = 5,1
Falta de Ajuste	3	124,0	41,3	1,7	<b>0,20</b>	
Erro Puro	29	717,8	24,8			
Erro Total	32	841,8				

**Tabela F.3** Análise de variância e teste de *Falta de Ajuste* para o modelo quadrático completo - Sulfametoxazol

Fonte de variação	g.l.	SS <sup>1</sup>	MS <sup>2</sup>	F <sub>cal</sub>	p-value	
Modelo	9	7273,2	808,1	39,3	<b>8,3E-15</b>	R <sup>2</sup> = 0,9171
Erro	32	657,5	20,5			R <sup>2</sup> <sub>ajd</sub> = 0,8938
Total	41	7930,7				RMSE = 4,5
Falta de Ajuste	3	107,3	35,8	1,9	<b>0,15</b>	
Erro Puro	29	550,1	19,0			
Erro Total	32	657,5				

Para o antibiótico Metronidazol três termos do modelo, efeito quadrático da temperatura e da concentração, e interação entre os fatores temperatura e concentração, não apresentam significância (para um nível de confiança de 95 % o parâmetro *p-value* deverá ser  $\leq 0,05$ ). As interações entre os fatores pH e temperatura e pH e concentração foram no caso do modelo ajustado aos resultados obtidos para o antibiótico Sulfametoxazol os termos não significantes. Em função destes resultados foram apenas mantidos nos modelos os termos significativos e novos ajustes foram realizados com base nos modelos quadráticos reduzidos que se apresentam na secção seguinte.

### Modelo Quadrático Reduzido

Os parâmetros dos modelos quadráticos reduzidos, obtidos para cada um dos antibióticos estão reunidos na Tabela F.4. A validação dos modelos ajustados, análise da variância (ANOVA) e teste de falta de ajuste (*lack-of-fit test*) é apresentada na Tabela F.5 e Tabela F.6. As equações que os descrevem e que permitiram traçar as superfícies de resposta e de contorno (secção 4.3.3.1 do capítulo III) são as seguintes:

$$q_{mod} = 85,2 + 28,6 \left( \frac{pH-5}{3} \right) + 6,7 \left( \frac{T-20}{10} \right) + 11,3 \left( \frac{C_{in}-30}{10} \right) + 5,5 \left[ \left( \frac{pH-5}{3} \right) \left( \frac{C_{in}-30}{10} \right) \right] + 5,2 \left[ \left( \frac{T-20}{10} \right) \left( \frac{C_{in}-30}{10} \right) \right] - 15,5 \left[ \left( \frac{pH-5}{3} \right) \right]^2$$

**Equação F. 2**

$$q_{mod} = 92,2 + 4,2 \left[ \left( \frac{pH-5}{3} \right) \right] + 11,3 \left[ \left( \frac{T-20}{10} \right) \right] + 7,1 \left[ \left( \frac{C_{in}-30}{10} \right) \right] + 8,1 \left[ \left( \frac{T-20}{10} \right) \left( \frac{C_{in}-30}{10} \right) \right] - 12,7 \left[ \left( \frac{pH-5}{3} \right) \right]^2 - 6,3 \left[ \left( \frac{T-20}{10} \right) \right]^2 - 5,9 \left[ \left( \frac{C_{in}-30}{10} \right) \right]^2$$

**Equação F. 3**

**Tabela F.4** Parâmetros obtidos para os modelos quadráticos reduzidos ajustados aos sistemas em estudo.

	Metronidazol		Sulfametoxazol	
	Coefficiente	<i>p-value</i>	Coefficiente	<i>p-value</i>
$\beta_0$	85,2 $\pm$ 2,5	3,6E-39	92,2 $\pm$ 3,7	1,6E-33
$\beta_1$	28,6 $\pm$ 2,2	5,0E-25	4,2 $\pm$ 1,9	6,2E-05
$\beta_2$	6,7 $\pm$ 2,2	2,8E-07	11,3 $\pm$ 1,9	4,2E-14
$\beta_3$	11,3 $\pm$ 2,2	1,4E-12	7,1 $\pm$ 1,9	4,6E-09
$\beta_{12}$	n.s.		n.s.	
$\beta_{13}$	5,5 $\pm$ 3,0	8,3E-04	n.s.	
$\beta_{23}$	5,2 $\pm$ 3,0	1,4E-03	8,1 $\pm$ 2,6	4,0E-07
$\beta_{11}$	-15,5 $\pm$ 3,3	2,6E-11	-12,7 $\pm$ 2,9	3,2E-10
$\beta_{22}$	n.s.		-6,3 $\pm$ 2,9	1,3E-04
$\beta_{33}$	n.s.		-5,9 $\pm$ 2,9	2,5E-04
$R^2$	0,9662		0,9137	
Falta de ajuste	0,22		0,25	
<i>p-value</i>				

**Tabela F.5** Análise de variância e Teste de Falta de Ajuste para o modelo quadrático reduzido – Metronidazol.

Fonte de variação	g.l.	SS	MS	F <sub>cal</sub>	<i>p-value</i>	
Modelo	6	26857,0	4476,2	166,8	<b>3,0E-24</b>	$R^2 = 0,9662$
Erro	35	939,2	26,8			$R^2_{ajd} = 0,9604$
Total	41	27796,2				RMSE = 5,2
Falta de Ajuste	6	221,4	36,9	1,5	<b>0,22</b>	
Erro Puro	29	717,8	24,8			
Erro Total	35	939,2				

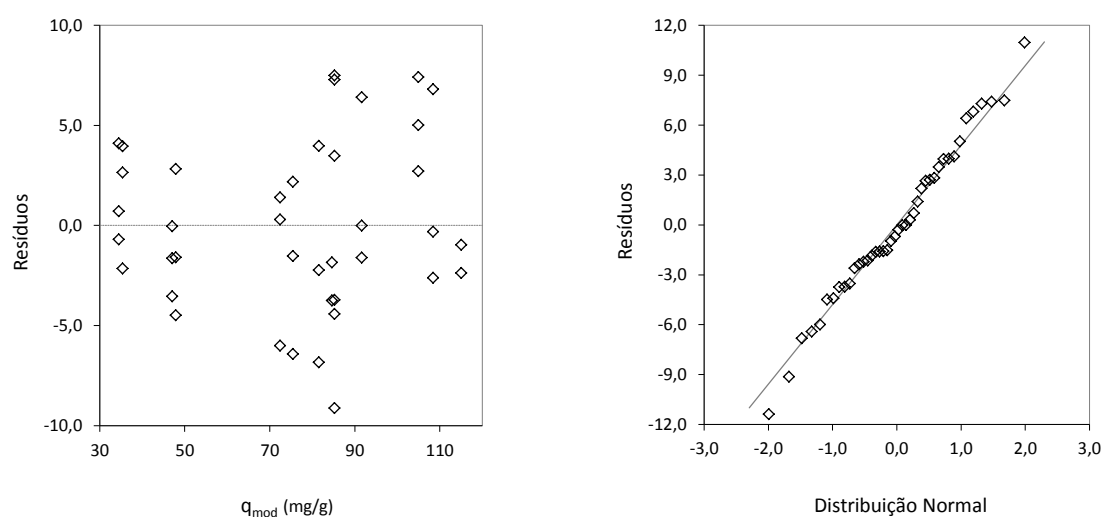
**Tabela F.6** Análise de variância e Teste de Falta de Ajuste para o modelo quadrático reduzido – Sulfametoxazol.

Fonte de variação	g.l.	SS	MS	F <sub>cal</sub>	<i>p-value</i>	
Modelo	7	7246,3	1035,2	51,4	<b>3,0E-16</b>	$R^2 = 0,9137$
Erro	34	684,4	20,1			$R^2_{ajd} = 0,8959$
Total	41	7930,7				RMSE = 4,5
Falta de Ajuste	5	134,2	26,8	1,4	<b>0,25</b>	
Erro Puro	29	550,1	19,0			
Erro Total	34	684,4				

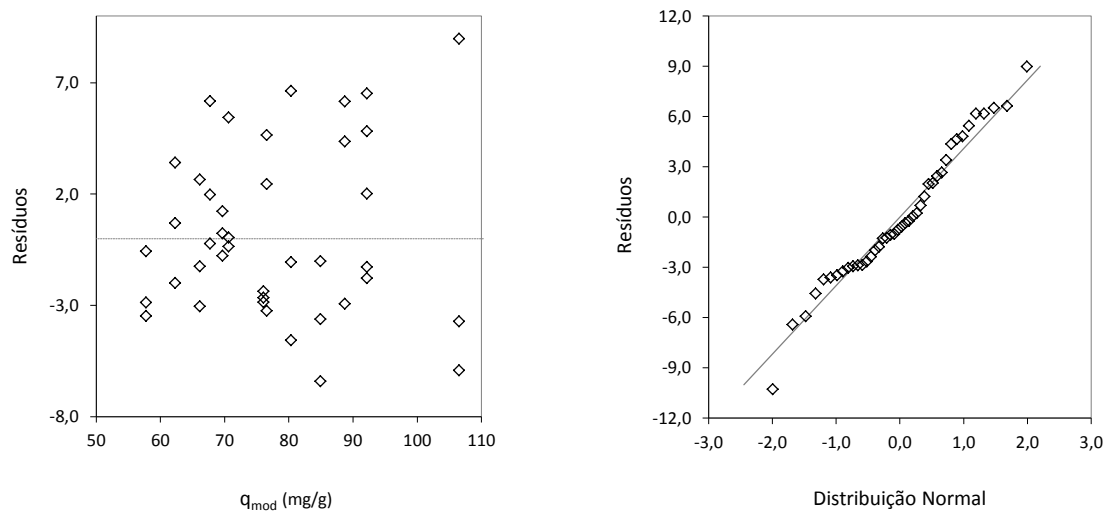
A análise de variância confirma, para os dois modelos ajustados, que a variância associada ao modelo é significativamente superior à variância observada para o erro experimental. Os valores de *p-value* são de  $3,0 \times 10^{-24}$  e  $3,0 \times 10^{-16}$  para Metronidazol e Sulfametoxazol, respetivamente (um modelo é considerado adequado, isto é, pelo menos um dos coeficientes é significativamente diferente de zero ou pelo menos um dos parâmetros do modelo é significativo, para *p-value*  $\leq 0,05$ ).

O *Teste-F* para a falta de ajuste confirma que a dispersão dos valores experimentais face ao modelo (variância de falta de ajuste) e a dispersão observada para as réplicas (variância do erro puro) não são estatisticamente diferentes (*p-value*  $\geq 0,05$ ), podendo assim considerar-se que os modelos representam adequadamente os resultados experimentais.

As análises aos resíduos, para os modelos quadráticos reduzidos, representam-se na Figura F.1 e Figura F.2 e assinalam também comportamentos adequados. Os testes de normalidade dos resíduos indicam que os mesmos seguem uma distribuição normal. Não se verifica a existência de uma tendência ou padrão na variação dos resíduos em relação aos valores ajustados (resíduos homocedásticos - gráficos à esquerda).



**Figura F.1** Gráficos de análise do comportamento dos resíduos para Metronidazol. Teste de homocedasticidade (gráfico à esquerda) e teste de normalidade (gráfico à direita).



**Figura F.2** Gráficos de análise do comportamento dos resíduos para: (a) Metronidazol e (b) Sulfametoxazol. Testes de homocedasticidade (gráficos à esquerda) e teste de normalidade (gráficos à direita)

## ANEXO G ESTUDO DO EQUILÍBRIO DE ADSORÇÃO

## 1. SISTEMA MONOCOMPONENTE - AJUSTES E VALIDAÇÃO

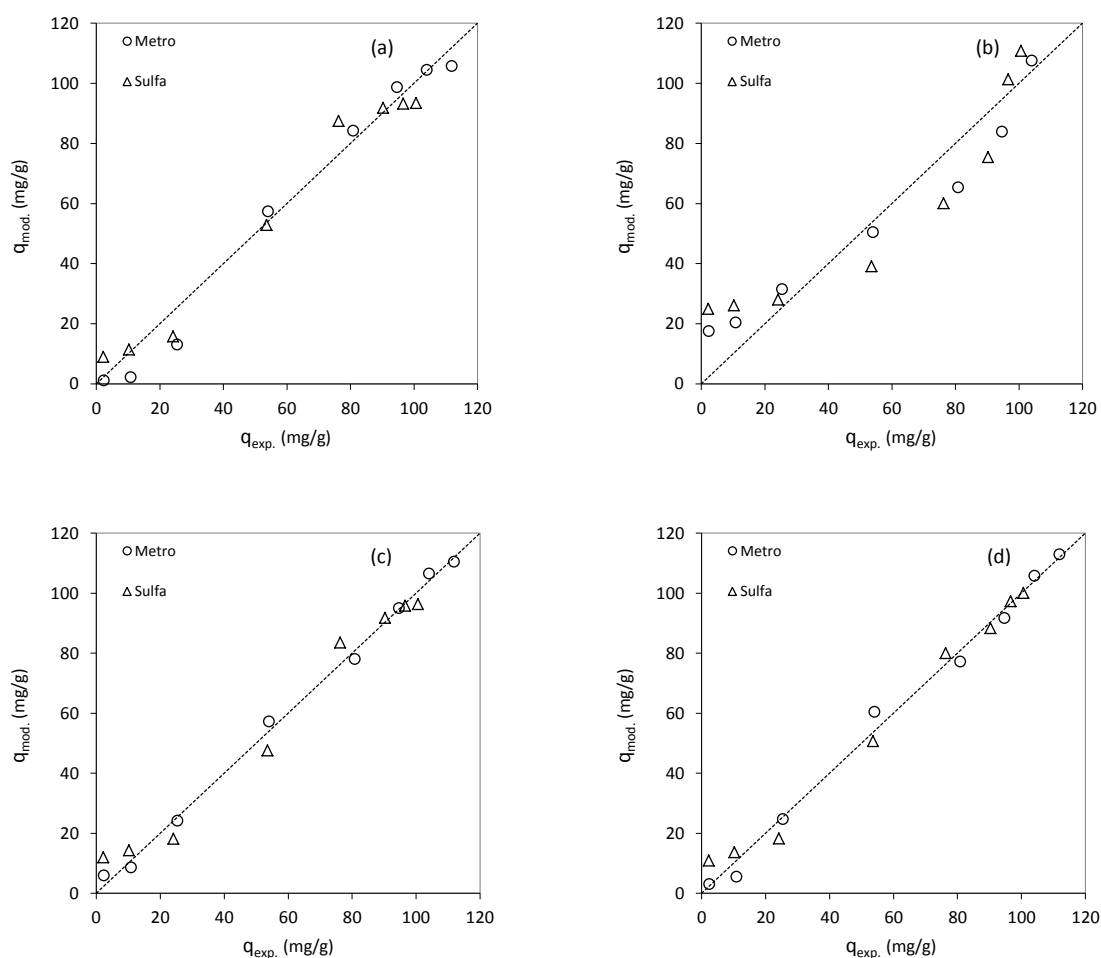
Apresentam-se na Tabela G1 os resultados relativos aos ajustes dos modelos de Langmuir, Freundlich, Langmuir-Freundlich e Redlich-Peterson aos dados experimentais de equilíbrio monocomponente (20 °C e pH 6). Os parâmetros destes ajustes são igualmente necessários na aplicação dos modelos preditivos e modificados aos dados de equilíbrio bicomponente.

**Tabela G.1** Parâmetros de ajuste dos modelos monocomponente para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol em sistema monocomponente e respetiva análise estatística.

	Metronidazol	Sulfametoxazol
<b>Langmuir</b>		
$Q_L$ (mg/g)	107,4±4,9	93,5±3,8
$K_L$ (L/mg)	2,6±0,7	22,2±5,6
$R^2$	0,9799	0,9724
SSE	312	309
RMSE	7,2	7,2
<b>Freundlich</b>		
$K_F$ ( $\text{mg}^{1-1/n_F} \text{g}^{-1} \text{L}^{1/n_F}$ )	60,8±5,2	65,0±6,7
$n_F$	4,5±0,7	5,5±1,2
$R^2$	0,9296	0,8394
SSE	826	1599
RMSE	11,6	16,3
<b>Langmuir-Freundlich</b>		
$Q_{LF}$ (mg/g)	122,2±5,5	97,5±5,6
$K_{LF}$ ( $\text{mg}^{-1/n_{LF}} \text{L}^{1/n_{LF}}$ )	1,5±0,2	8,3±5,6
$n_{LF}$	0,6±0,1	0,8±0,2
$R^2$	0,9966	0,9760
SSE	45,3	256
RMSE	3,0	7,2
<b>Redlich-Peterson</b>		
$K_{RP}$ ( $\text{L g}^{-1}$ )	831,0±275,7	2742,6±729,0
$a$ ( $\text{L g}^{-1}$ ) $^{\beta}$	10,4±3,9	32,0±9,5
$\beta$	0,89±0,02	0,95±0,02
$R^2$	0,9929	0,9860
SSE	98,2	149
RMSE	4,4	5,0

O modelo de Freundlich apresenta, para ambos os antibióticos, os maiores desvios na representação dos dados experimentais como pode ser observado na Tabela G.1 (maiores valores de SSE e maiores erros padrão) e analisado, com maior detalhe, através da Figura G.1 na qual se representam os valores obtidos pelos ajustes ( $q_{\text{mod.}}$ ) para as capacidades de adsorção no equilíbrio em função dos valores experimentais ( $q_{\text{exp.}}$ ). Para o antibiótico Metronidazol os modelos de Langmuir-Freundlich e Redlich-Peterson apresentam os melhores

índices de desempenho que se traduzem em coeficientes de determinação superiores a 0,99, menores erros padrão e inferiores variâncias residuais, para os modelos estudados.



**Figura G.1** Representação gráfica dos valores previstos ( $q_{mod.}$ ) em função dos valores experimentais ( $q_{exp.}$ ) para os modelos monocomponente de Langmuir (a), Freundlich (b), Langmuir-Freundlich (c) e Redlich-Peterson (d).

Quando comparadas as variâncias residuais (Tabela G.2), de todos os modelos aplicados aos dados experimentais de Metronidazol, apenas o modelo de Freundlich apresenta uma variância residual (a maior dentre os quatro modelos) estatisticamente diferente (para um nível de confiança de 95 %) quando comparada com as variâncias dos modelos de Langmuir-Freundlich e Redlich-Peterson. Para o antibiótico Sulfametoxazol, o modelo de Redlich-Peterson apresenta melhores parâmetros de desempenho mas a menor variância residual deste modelo não é estatisticamente diferente das restantes à exceção da obtida para o modelo de Freundlich.



**Tabela G.2** Comparação das variâncias residuais dos modelos monocomponente ajustados aos dados de equilíbrio de Metronidazol (*Teste-F*).

		Langmuir	Freundlich	Langmuir-Freundlich	Redlich-Peterson
Langmuir	MSE	51,9	138	9,1	19,6
	g.l.	6	6	5	5
	F <sub>calculado</sub>	-	2,65	5,73	2,65
	F <sub>crítico</sub>	-	5,82	6,98	6,98
		F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> Não há diferença estatística significativa*		F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> Não há diferença estatística significativa*	F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> Não há diferença estatística significativa*
Freundlich	MSE	-	138	9,1	19,6
	g.l.	-	6	5	5
	F <sub>calculado</sub>	-	-	15,3	7,03
	F <sub>crítico</sub>	-	-	6,98	6,98
				F <sub>cal</sub> > F <sub>cri</sub> Há diferença estatística significativa*	F <sub>cal</sub> > F <sub>cri</sub> Há diferença estatística significativa*
Langmuir-Freundlich	MSE	-	-	9,1	19,6
	g.l.	-	-	5	5
	F <sub>calculado</sub>	-	-	-	2,16
	F <sub>crítico</sub>	-	-	-	7,15
					F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> Não há diferença estatística significativa*

**Tabela G.3** Comparação das variâncias residuais dos modelos monocomponente ajustados aos dados de equilíbrio de Sulfametoxazol (*Teste-F*).

		Langmuir	Freundlich	Langmuir-Freundlich	Redlich-Peterson
Langmuir	MSE	51,4	267	51,3	29,9
	g.l.	6	6	5	5
	F <sub>calculado</sub>	-	5,18	1,00	1,72
	F <sub>crítico</sub>	-	5,82	6,98	6,98
		F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> Não há diferença estatística significativa*		F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> Não há diferença estatística significativa*	F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> Não há diferença estatística significativa*
Freundlich	MSE	-	267	51,3	29,9
	g.l.	-	6	5	5
	F <sub>calculado</sub>	-	-	5,20	8,92
	F <sub>crítico</sub>	-	-	6,98	6,98
				F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> Não há diferença estatística significativa*	F <sub>cal</sub> > F <sub>cri</sub> Há diferença estatística significativa*
Langmuir-Freundlich	MSE	-	-	51,3	29,9
	g.l.	-	-	5	5
	F <sub>calculado</sub>	-	-	-	1,72
	F <sub>crítico</sub>	-	-	-	7,15
					F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub> Não há diferença estatística significativa*

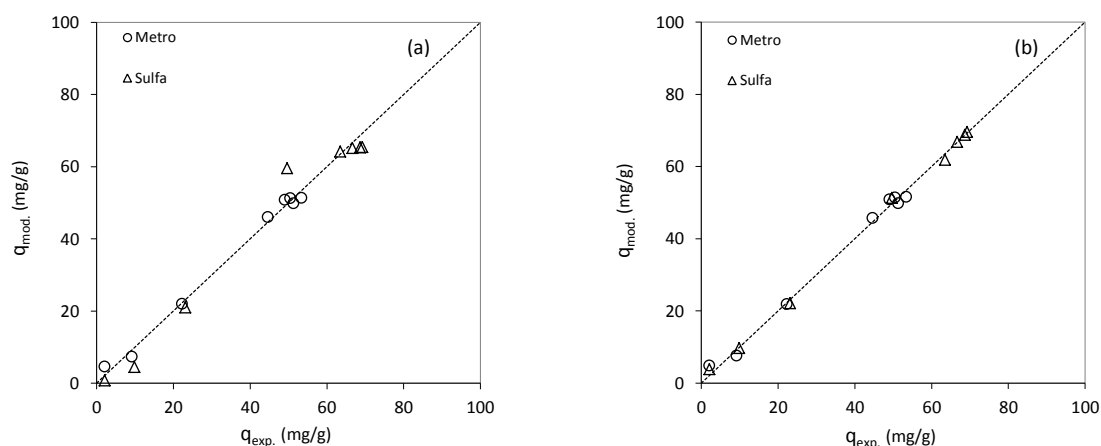
## 2. ESTUDO DO EQUILÍBRIO DE ADSORÇÃO EM SISTEMA BICOMPONENTE - AJUSTES E VALIDAÇÃO

### Aplicação de Modelos Monocomponente

Indicam-se na Tabela G.4 os resultados obtidos para os ajustes dos modelos monocomponente Langmuir e Langmuir-Freundlich aos valores experimentais de equilíbrio, a pH 6, em sistema binário. Ambos os modelos representam adequadamente os resultados, no entanto, o modelo de Langmuir-Freundlich apresenta para o antibiótico Sulfametoxazol uma menor variância residual (MSE) com significância estatística. A representação gráfica dos valores ajustados em função dos valores experimentais (Figura G.2), para ambos os antibióticos, permite uma avaliação mais pormenorizada da qualidade dos ajustes.

**Tabela G.4** Parâmetros de ajuste dos modelos monocomponente de Langmuir e Langmuir-Freundlich e respetiva análise estatística para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol.

	Langmuir		Langmuir-Freundlich		
	Q <sub>L</sub> (mg/g)	K <sub>L</sub> (L/mg)	Q <sub>LF</sub> (mg/g)	K <sub>LF</sub> (mg <sup>-1/n<sub>LF</sub></sup> L <sup>1/n<sub>LF</sub></sup> )	n <sub>LF</sub>
Metronidazol	51,7±1,0	6,5±0,9	51,9±1,3	6,0±2,1	1,0±0,1
R <sup>2</sup>	0,9927		0,9928		
SSE	21,8		21,5		
MSE	3,6		4,3		
RMSE	1,9		2,1		
g.l	6		5		
F <sub>calculado</sub> = 1,18; F <sub>crítico</sub> = 5,99					
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub>					
Não há diferença estatística significativa*					
Sulfametoxazol	65,5±8,1	23,5±2,5	72,4±1,5	4,0±0,6	0,6±0,1
R <sup>2</sup>	0,9736		0,9983		
SSE	162		9,4		
MSE	27,0		1,9		
RMSE	5,2		1,4		
g.l	6		5		
F <sub>calculado</sub> = 14,4; F <sub>crítico</sub> = 6,98					
F <sub>cal</sub> > F <sub>cri</sub>					
Há diferença estatística significativa*					



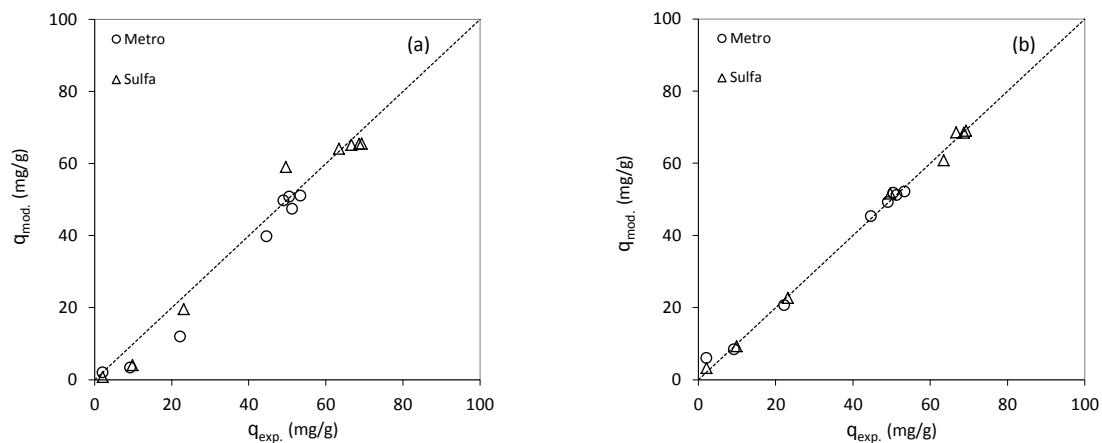
**Figura G.2** Representação gráfica dos valores previstos ( $q_{mod.}$ ) em função valores experimentais ( $q_{exp.}$ ) para os modelos monocomponente de Langmuir (a) e Langmuir-Freundlich (b).

#### Aplicação de Modelos Bicomponente - Fator P e Langmuir-Freundlich Expandido

Reúnem-se na Tabela G.5 os parâmetros obtidos para os ajustes dos modelos Fator P e Langmuir-Freundlich Expandido. Estes são os modelos que apresentam melhor desempenho na interpretação dos resultados experimentais. O modelo Fator P relaciona as capacidades em sistema mono e bicomponente num parâmetro designado por P, recorrendo em simultâneo a todos os dados experimentais obtidos. Para o ajuste do modelo de Langmuir-Freundlich Expandido, apenas os resultados experimentais obtidos em sistema bicomponente são considerados. O melhor desempenho deste modelo é notório quando avaliado o coeficiente de determinação, erro padrão e variância residual cuja diferença é estatisticamente significativa. A Figura G.3, onde se representam os valores ajustados *versus* valores experimentais permite comparar e confirmar a qualidade dos ajustes de ambos os modelos.

**Tabela G.5** Parâmetros de ajuste dos modelos Fator P e Langmuir-Freundlich Expandido e respetiva análise estatística para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol.

Fator P			Langmuir-Freundlich Expandido				
$P_{Metro}$		$P_{Sulfa}$	$Q_{LF}$ (mg/g)	$K_{LF - Metro}$ ( $mg^{-n_{LF}} L^{n_{LF}}$ )	$K_{LF - Sulfa}$ ( $mg^{-n_{LF}} L^{n_{LF}}$ )	$n_{LF - Metro}$	$n_{LF - Sulfa}$
2,08		1,43	123,7	1,4	3,8	0,8	0,6
$R^2$	-	0,9645			$R^2$	-	0,9954
SSE	-	353			SSE	-	38
MSE	-	22,1			MSE	-	3,5
RMSE	-	4,7			RMSE	-	1,9
g.l	-	16			g.l	-	11
$F_{calculado} = 6,32; F_{critico} = 3,30$ $F_{cal} > F_{cri}$ Há diferença estatística significativa*							



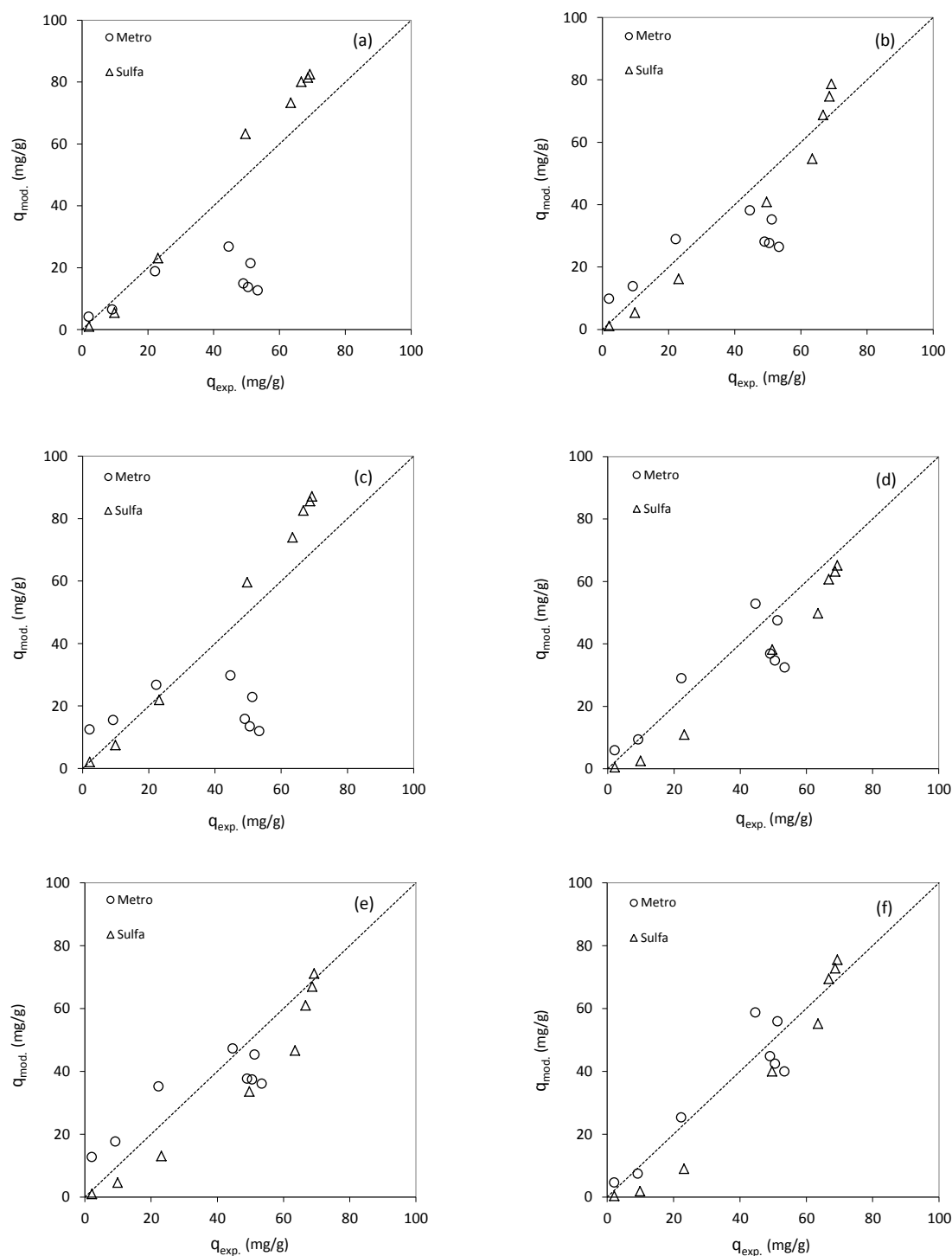
**Figura G.3** Representação gráfica dos valores previstos ( $q_{mod}$ ) em função valores experimentais ( $q_{exp}$ ) para os modelos Fator P (a) e Langmuir-Freundlich (b).

### Aplicação de Modelos Bicomponente

Reúnem-se na Tabela G.6 e na Figura G.4 os resultados obtidos para os diversos modelos considerados. Os modelos aqui presentes não representam de forma adequada os valores experimentais, como pode ser observado pelos valores obtidos para o coeficiente de determinação, SSE e erros padrão.

**Tabela G.6** Parâmetros de ajuste dos modelos bicomponente e respectiva análise estatística para os antibióticos Metronidazol e Sulfametoxazol.

	Metronidazol	Sulfametoxazol
<b>Langmuir Previsão</b>		
$Q_L$ (mg/g)	107,4±4,9	93,5±3,8
$K_L$ (L/mg)	2,6±0,7	22,2±5,6
$R^2$	0,4089	0,9184
SSE	5437	815
RMSE	26,1	10,1
<b>Redlich-Peterson Previsão</b>		
$K_{RP}$ (L g <sup>-1</sup> )	831,0±275,7	2742,6±729,0
$a$ (L g <sup>-1</sup> ) <sup>β</sup>	10,4±3,9	32,0±9,5
$\beta$	0,89±0,02	0,95±0,02
$R^2$	0,3895	0,9520
SSE	2125	352
RMSE	16,3	6,6
<b>Langmuir-Freundlich Previsão</b>		
$Q_{LF}$ (mg/g)	122,2±5,5	97,5±5,6
$K_{LF}$ (mg <sup>-nLF</sup> L <sup>nLF</sup> )	1,5±0,2	8,3±5,6
$n_{LF}$	0,6±0,1	0,8±0,2
$R^2$	0,3237	0,9011
SSE	5415	1074
RMSE	10,1	3,7
<b>Langmuir Modificado</b>		
$Q_L$ (mg/g)	107,4±4,9	93,5±3,8
$K_L$ (L/mg)	2,6±0,7	22,2±5,6
$\eta$	0,69	2,25
$R^2$	0,6744	0,9055
SSE	987	615
RMSE	11,9	9,4
<b>Redlich-Peterson Modificado</b>		
$K_{RP}$ (L g <sup>-1</sup> )	831,0±275,7	2742,6±729,0
$a$ (L g <sup>-1</sup> ) <sup>β</sup>	10,4±3,9	32,0±9,5
$\beta$	0,89±0,02	0,95±0,02
$\eta$	0,73	1,10
$R^2$	0,5191	0,8935
SSE	721	998
RMSE	11,9	10,2
<b>Langmuir Expandido</b>		
$Q_L$ (mg/g)	115,8	115,8
$K_L$ (L/mg)	2,7	5,7
$R^2$	0,8541	0,9382
SSE	504	496
RMSE	10,0	10,0



**Figura G.4** Representação gráfica dos valores previstos ( $q_{mod.}$ ) em função valores experimentais ( $q_{exp.}$ ) para os modelos de preditivos de Langmuir (a), Redlich-Peterson (b) e Langmuir-Freundlich (c); modelos modificados de Langmuir (d) e Redlich-Peterson (e); modelos expandidos de Langmuir (f).

Nenhum dos modelos representa adequadamente os resultados. Os maiores desvios são observados para os modelos de previsão e para o antibiótico Metronidazol. As quantidades previstas ( $q_{mod.}$ ) são consideravelmente inferiores às obtidas. Em contraste, os resultados previstos para Sulfametoxazol falham por excesso. A introdução dos parâmetros  $\eta$  permite melhorar muito ligeiramente os ajustes, em particular para o

Metronidazol, mas os desvios entre  $q_{\text{mod.}}$  e  $q_{\text{exp.}}$  são ainda elevados. O modelo de Langmuir Expandido, o único que usa exclusivamente os dados de equilíbrio binário, permite obter em particular para o antibiótico Metronidazol um ajuste consideravelmente melhor (maior coeficiente de determinação e menor erro padrão) em particular para os valores mais baixos de concentrações de equilíbrio.

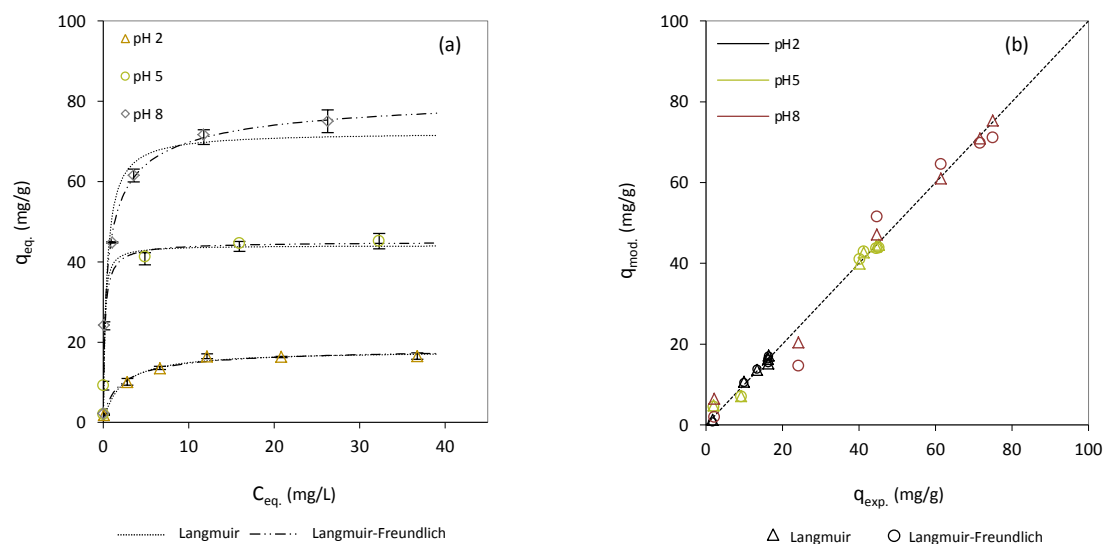
### Sistema Bicomponente – Efeito do pH - Modelos Monocomponente

Nas Tabelas G.7 e G.8 estão reunidos os parâmetros obtidos para os ajustes dos modelos monocomponente (Langmuir e Langmuir-Freundlich) aos dados experimentais de equilíbrio bicomponente (1:1) para os ensaios a pH 2, 5 e 8. Incluem-se também os parâmetros estatísticos que permitem avaliar a qualidade dos ajustes na representação dos dados experimentais (coeficiente de determinação ( $R^2$ ), o erro padrão (RMSE) e o *Teste-F* para comparação das variâncias residuais (MSE)). A representação gráfica das isotérmicas de equilíbrio e a comparação entre os valores ajustados ( $q_{\text{mod.}}$ ) em função dos valores experimentais ( $q_{\text{exp.}}$ ) são também apresentados (Figuras G.5 e G.6).

**Tabela G.7** Parâmetros de ajuste dos modelos monocomponente para o antibiótico Metronidazol em sistema bicomponente e respetiva análise estatística.

	Langmuir		Langmuir-Freundlich		
	Q <sub>L</sub> (mg/g)	K <sub>L</sub> (L/mg)	Q <sub>LF</sub> (mg/g)	K <sub>LF</sub> (mg <sup>-1/n<sub>LF</sub></sup> L <sup>1/n<sub>LF</sub></sup> )	n <sub>LF</sub>
pH 2	17,9±0,8	0,5±0,1	18,8±1,9	0,8±0,2	0,6±0,1
R <sup>2</sup>	0,9848		0,9853		
SSE	2,9		2,6		
MSE	0,73		0,86		
RMSE	0,85		0,93		
g.l.	4		3		
F <sub>calculado</sub> = 1,18; F <sub>crítico</sub> = 9,98					
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub>					
Não há diferença estatística significativa*					
pH 5	44,1±1,1	7,5±2,1	45,1±2,0	4,6±2,8	0,9±0,2
R <sup>2</sup>	0,9913		0,9922		
SSE	16,2		14,5		
MSE	4,1		4,8		
RMSE	2,0		2,2		
g.l.	4		3		
F <sub>calculado</sub> = 1,19; F <sub>crítico</sub> = 9,98					
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub>					
Não há diferença estatística significativa*					
pH 8	72,3±4,6	2,4±1,0	83,8±7,6	1,2±0,4	0,6±0,1
R <sup>2</sup>	0,9641		0,9902		
SSE	168		38,8		
MSE	41,9		12,9		
RMSE	6,5		3,6		
g.l.	4		3		
F <sub>calculado</sub> = 3,25; F <sub>crítico</sub> = 15,10					
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub>					
Não há diferença estatística significativa*					

A adsorção do antibiótico Metronidazol é bem representada por ambos os modelos. A maior diferença ocorre no ajuste a pH 8 para o qual o modelo de Langmuir-Freundlich apresenta melhores índices de desempenho (maior coeficiente de determinação, menor variância residual e erro padrão), no entanto a diferença não é estatisticamente significativa.

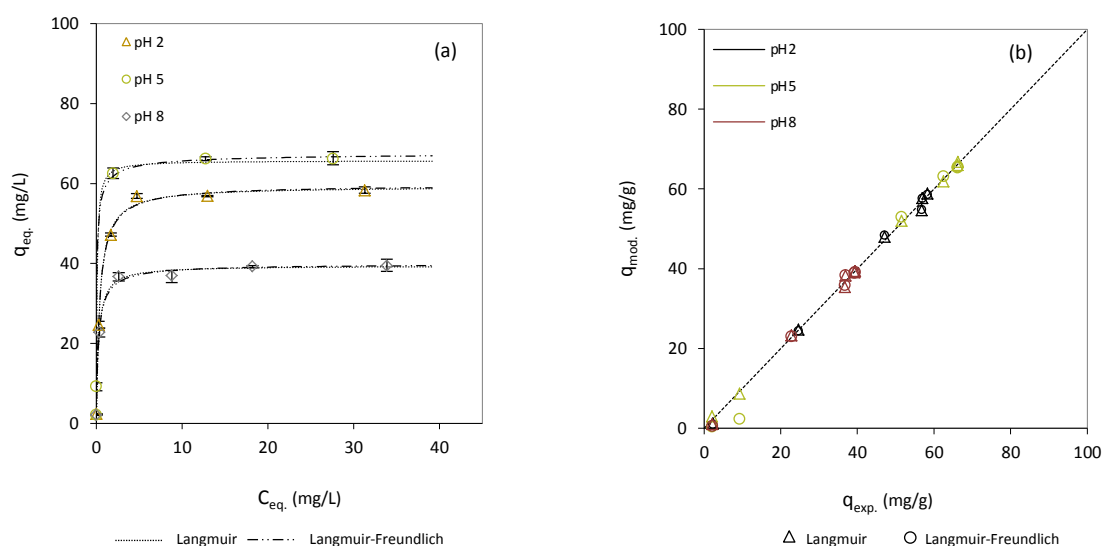


**Figura G.5** Isotérmicas de equilíbrio previstas pelos modelos monocomponente de Langmuir e Langmuir-Freundlich para o antibiótico Metronidazol em sistema bicomponente (a) e respectiva comparação entre os valores previstos ( $q_{mod.}$ ) e valores experimentais ( $q_{exp.}$ ) (b).



**Tabela G.8** Parâmetros de ajuste dos modelos monocomponente para o antibiótico Sulfametoxazol em sistema bicomponente e respectiva análise estatística.

	Langmuir		Langmuir-Freundlich		
	Q <sub>L</sub> (mg/g)	K <sub>L</sub> (L/mg)	Q <sub>LF</sub> (mg/g)	K <sub>LF</sub> (mg <sup>-1/n<sub>LF</sub></sup> L <sup>1/n<sub>LF</sub></sup> )	n <sub>LF</sub>
pH 2	59,3±0,9	2,6±0,3	59,7±1,6	2,5±0,4	0,95±0,12
R <sup>2</sup>	0,9971		0,9972		
SSE	7,82		7,49		
MSE	1,95		2,50		
RMSE	1,4		1,6		
g.l.	4		3		
F <sub>calculado</sub> = 1,28; F <sub>crítico</sub> = 9,98					
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub>					
Não há diferença estatística significativa*					
pH 5	65,7±2,4	12,1±4,9	67,9±0,7	6,6±0,7	0,65±0,03
R <sup>2</sup>	0,9891		0,9996		
SSE	54,80		1,90		
MSE	13,70		0,63		
RMSE	3,7		0,8		
g.l.	4		3		
F <sub>calculado</sub> = 21,69; F <sub>crítico</sub> = 15,10					
F <sub>cal</sub> > F <sub>cri</sub>					
Há diferença estatística significativa*					
pH 8	39,5±0,7	3,8±0,5	40,0±1,3	3,3±0,9	0,87±0,19
R <sup>2</sup>	0,9955		0,9956		
SSE	5,38		5,06		
MSE	1,35		1,69		
RMSE	1,2		1,3		
g.l.	4		3		
F <sub>calculado</sub> = 1,25; F <sub>crítico</sub> = 9,98					
F <sub>cal</sub> < F <sub>cri</sub>					
Não há diferença estatística significativa*					



**Figura G.6** Isotérmicas de equilíbrio previstas pelos modelos monocomponente de Langmuir e Langmuir-Freundlich para o antibiótico Sulfametoxazol em sistema bicomponente (a) e respectiva comparação entre os valores previstos ( $q_{mod}$ ) e valores experimentais ( $q_{exp}$ ) (b).

Os modelos monocomponente de Langmuir e Langmuir-Freundlich ajustam-se bem aos dados de equilíbrio bicomponente de Sulfametoxazol, aos e à exceção dos resultados obtidos a pH 5, para os quais o modelo de Langmuir-Freundlich apresenta uma menor variância residual com significância estatística, não há diferença entre os modelos na representação dos valores experimentais. A influência do pH na capacidade de sorção está bem expressa nos gráficos da Figura G.6 de acordo com o que já tinha sido observado nos estudos de equilíbrio monocomponente. Os dados obtidos confirmam também o efeito antagónico do pH na remoção de ambos os antibióticos.

### Sistema Bicomponente – Efeito do pH - Modelos Expandidos

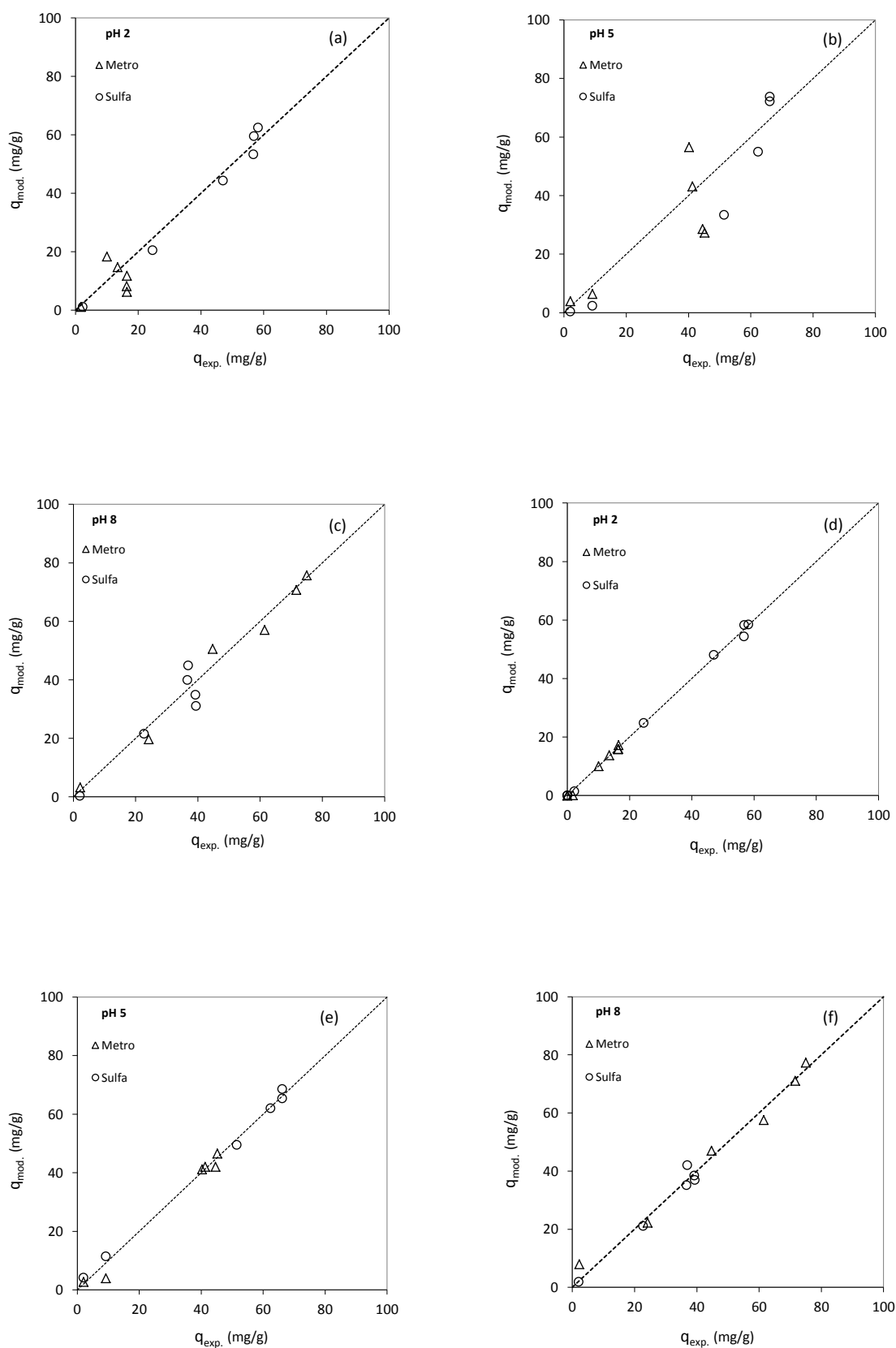
Apresentam-se na Tabela G.9 e Figura G.7 os resultados dos ajustes obtidos para os modelos expandidos de Langmuir e Langmuir-Freundlich na interpretação dos dados de equilíbrio bicomponente para as isotérmicas a pH 2, 5 e 8.

**Tabela G.9** Parâmetros de ajuste e de desempenho estatístico obtidos para os modelos expandidos de Langmuir e Langmuir-Freundlich.

Langmuir Expandido				Langmuir-Freundlich Expandido				
pH	$Q_L$ (mg/g)	$K_L$ - Metro (L/mg)	$K_L$ - Sulfa (L/mg)	$Q_{LF}$ (mg/g)	$K_{LF}$ - Metro ( $\text{mg}^{-n_{LF}} \text{L}^{n_{LF}}$ )	$K_{LF}$ - Sulfa ( $\text{mg}^{-n_{LF}} \text{L}^{n_{LF}}$ )	$n_{LF}$ - Metro	$n_{LF}$ - Sulfa
2	69,5	0,2	2,5	77,0	1,6	1,9	0,05	0,9
	$R^2$	0,9079				$R^2$	0,9952	
	SSE	325				SSE	14	
	RMSE	6,0				RMSE	1,4	
5	101,4	2,7	8,6	114,0	1,0	4,1	0,9	0,6
	$R^2$	0,8464				$R^2$	0,9908	
	SSE	1385				SSE	57	
	RMSE	12,4				RMSE	2,9	
8	107,9	2,8	0,9	123,7	1,1	0,5	0,6	0,6
	$R^2$	0,9572				$R^2$	0,9798	
	SSE	244				SSE	101	
	RMSE	5,2				RMSE	3,8	

O modelo de Langmuir-Freundlich representa bem os dados experimentais, o que é confirmado pela observação dos parâmetros de desempenho estatístico, com coeficientes de determinação superiores a 0,97 e erros padrão significativamente inferiores aos registados para o modelo de Langmuir. Os gráficos da Figura G.7 permitem também, e de forma mais evidente/clara, constatar o melhor desempenho do modelo de Langmuir-Freundlich na representação dos dados de equilíbrio binário. O modelo de Langmuir Expandido apresenta desvios consideráveis entre os valores experimentais e os valores previstos, não representando adequadamente os dados experimentais. De um modo geral, este modelo prevê para o antibiótico Metronidazol valores de sorção inferiores aos observados, à exceção do ajuste aos dados obtidos nos ensaios a pH 8. Em contrapartida, para o antibiótico Sulfametoxazol, as capacidades de sorção são sobrestimadas em particular para as concentrações de equilíbrio mais elevadas. O modelo de Langmuir-Expandido apresenta sem

dúvida menores desvios entre os valores experimentais e ajustados para ambos os antibióticos, o que é também confirmado pelos coeficientes de determinação e erros padrão.



**Figura G.7** Representação gráfica dos valores previstos ( $q_{mod.}$ ) em função valores experimentais ( $q_{exp.}$ ) para os modelos de Langmuir Expandido (a, b, c) e Langmuir-Freundlich Expandido (d, e, f).

**ANEXO H DESENHO EXPERIMENTAL COMPOSTO E CENTRADO (CCD – CENTRAL COMPOSITE DESIGN)**

Reúnem-se neste anexo informações mais detalhadas sobre a modelação matemática, validação dos ajustes e otimização simultânea (Secção 4.5.4 capítulo III).

**1. MODELO QUADRÁTICO COMPLETO**

Apresentam-se nas Tabelas H.1 e H.2 os resultados obtidos para validação dos modelos quadráticos completos ajustados aos resultados experimentais em sistema bicomponente.

**Tabela H.1** Análise de variância e Teste de Falta de Ajuste - Metronidazol.

Fonte de variação	g.l.	SS	MS	F <sub>cal</sub>	p-value	
Modelo	5	7501,0	1500,2	112,4	<b>1,2E-9</b>	R <sup>2</sup> = 0,9791
Erro	12	160,2	13,4			R <sup>2</sup> <sub>ajd</sub> = 0,9703
Total	17	7661,2				RMSE = 3,7
Falta de Ajuste	3	87,3	29,1	3,6	<b>0,059</b>	
Erro Puro	9	72,9	8,1			
Erro Total	12	160,2				

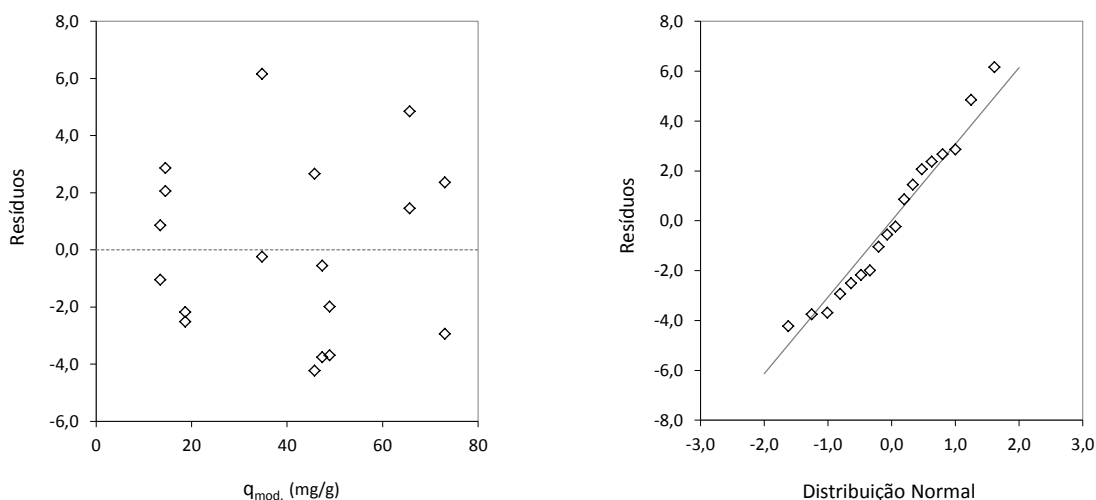
**Tabela H.2** Análise de variância e Teste de Falta de Ajuste - Sulfametoxazol.

Fonte de variação	g.l.	SS	MS	F <sub>cal</sub>	p-value	
Modelo	5	2224,8	445,0	91,2	<b>4,0E-9</b>	R <sup>2</sup> = 0,9744
Erro	12	58,5	4,9			R <sup>2</sup> <sub>ajd</sub> = 0,9637
Total	17	2283,3				RMSE = 2,2
Falta de Ajuste	3	25,7	8,6	2,4	<b>0,14</b>	
Erro Puro	9	32,8	3,6			
Erro Total	12	58,5				

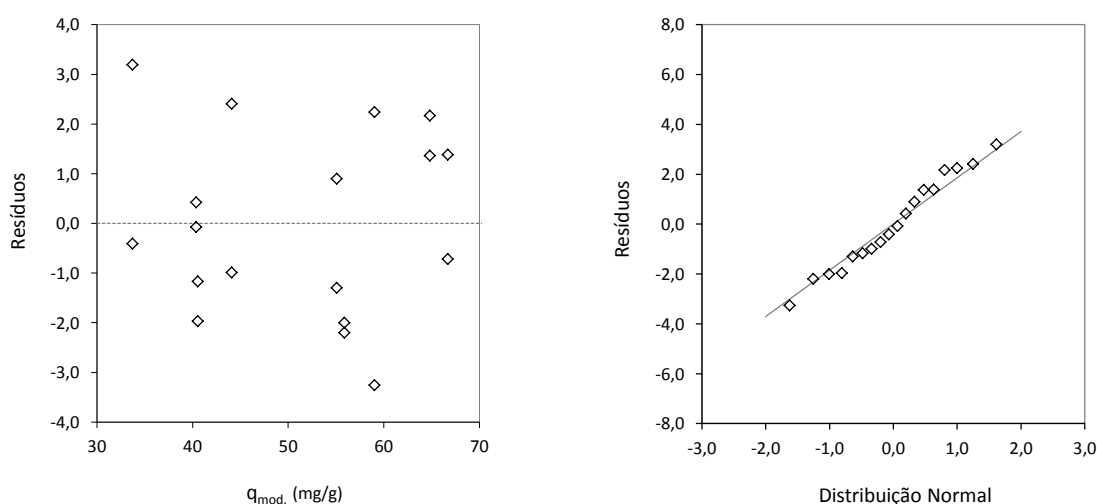
A análise da variância confirma que as variações associadas aos modelos são significativamente superiores às variações observadas para o erro experimental. Os valores de *p-value* são de  $1,2 \times 10^{-9}$  e  $4,0 \times 10^{-9}$  para Metronidazol e Sulfametoxazol, respetivamente (um modelo é considerado adequado para *p-value* ≤ 0,05).

O *Teste-F* para a falta de ajuste confirma que a dispersão dos valores experimentais face ao modelo (variância de falta de ajuste) e a dispersão observada para as réplicas (variância do erro puro) não são estatisticamente diferentes (*p-value* ≥ 0,05) podendo assim considerar-se que os modelos representam adequadamente os valores experimentais.

As análises aos resíduos para os modelos quadráticos completos representam-se na Figura H.1. Os testes de normalidade dos resíduos indicam que os mesmos seguem uma distribuição normal. Não se verifica a existência de uma tendência ou padrão na variação dos resíduos em relação aos valores ajustados. As análises aos resíduos, representadas na Figura H.2 indicam também comportamentos adequados, isto é, distribuição normal e sem relação com o valor das respostas ou seja resíduos normais e homoscedásticos (variância dos resíduos constante).



**Figura H.1** Gráficos de análise do comportamento dos resíduos para Metronidazol. Teste de homocedasticidade (gráfico à esquerda) e teste de normalidade (gráfico à direita).



**Figura H.2** Gráficos de análise do comportamento dos resíduos para: (a) Metronidazol e (b) Sulfametoxazol. Testes de homocedasticidade (gráficos à esquerda) e teste de normalidade (gráficos à direita)

### Modelo Quadrático Reduzido - Metronidazol

Reúnem-se na Tabela H.3 os resultados obtidos para o modelo quadrático reduzido após a remoção do termo quadrático do parâmetro pH.

**Tabela H.3** Análise de variância e Teste de Falta de Ajuste - Metronidazol.

Fonte de variação	g.l.	SS	MS	F <sub>cal</sub>	p-value	
Modelo	4	7450,1	1862,5	114,7	<b>5,3E-10</b>	R <sup>2</sup> = 0,9724
Erro	13	211,2	16,2			R <sup>2</sup> <sub>ajd</sub> = 0,9640
Total	17	7661,2				RMSE = 4,0
Falta de Ajuste	4	138,3	34,6	4,3	<b>0,033</b>	
Erro Puro	9	72,9	8,1			
Erro Total	13	211,2				

Metronidazol		
	Coefficiente	p-value
$\beta_0$	43,4±3,6	1,1E-12
$\beta_1$	23,5±2,5	3,4E-11
$\beta_2$	6,3±2,5	1,2E-4
$\beta_{12}$	5,8±3,1	1,4E-2
$\beta_{22}$	-4,7±4,4	3,7E-2

Optou-se no entanto por manter este termo no modelo, uma vez que o modelo quadrático reduzido, resultante da sua remoção, apresenta uma menor qualidade de ajuste (maior erro padrão, menor coeficiente de determinação e não cumpre o teste de falta de ajuste).

## 2. OTIMIZAÇÃO SIMULTÂNEA – FUNÇÃO DESEJABILIDADE

Apresenta-se, neste capítulo, um breve resumo dos conceitos relacionados com a otimização de múltiplas respostas. A análise destes resultados compreendeu duas etapas consecutivas e independentes. Na primeira etapa, procurou-se identificar o modelo que melhor relaciona as variáveis independentes e de resposta. A segunda etapa visou encontrar o ponto ótimo global recorrendo-se para o efeito para à função Desejabilidade (*Desirability*). A função Desejabilidade (*Desirability*) é um método multicritério capaz de avaliar um conjunto de respostas simultaneamente, permitindo determinar o conjunto de condições mais desejáveis para as propriedades estudadas. Para a aplicação do método, deve, inicialmente, estabelecer-se o modelo matemático que relaciona as respostas de interesse e as variáveis independentes estudadas.

Posteriormente cada uma das respostas ( $Y_i$ ) é transformada, conforme o objetivo seja a minimização, normalização ou maximização, obtendo-se um valor para o parâmetro  $d_i$  ( $0 \leq d_i \leq 1$ ). Quando o objetivo é a maximização das diferentes respostas o (parâmetro)  $d_i$  é calculado do seguinte modo:

$$d_i = \begin{cases} 0 & \hat{Y}_i < L_i \\ \left[ \frac{\hat{Y}_i - L_i}{T_i - L_i} \right]^R & L_i \leq \hat{Y}_i \leq T_i \\ 1 & \hat{Y}_i > T_i \end{cases} \quad \text{Equação H.1}$$

Sendo  $\hat{Y}_i$  o valor ajustado da variável de resposta e  $R$  o seu peso;  $L_i$  o limite o valor mínimo ou limite de especificação inferior;  $T_i$  é o valor alvo (valor máximo, neste caso particular). Os valores  $d_i$  são combinados através de uma média geométrica por forma a obter-se o índice global  $D$ :

$$D = [d_1(Y_1) \times d_2(Y_2) \times \dots \times d_n(Y_n)]^{\frac{1}{n}} \quad \text{Equação H.2}$$

O índice global  $D$  será maximizado quando todas as respostas se aproximarem o máximo possível das especificações (dos valores desejados).

#### Função Desejabilidade – Valor Gerados

Reúnem-se na Tabela H.4 os valores gerados para as respostas e índice global  $D$ , fixando a concentração inicial no seu valor máximo testado (40 mg/L), permitindo deste modo observar com maior detalhe a influência do pH nas respostas, em particular, no interior da faixa correspondente a desejabilidade máxima (assinalada a negrito).

**Tabela H.4** Valores gerados para as respostas e índice global D, fixando a concentração inicial no seu valor máximo testado (40 mg/L).

Fatores		Metronidazol	Sulfametoxazol	Desejabilidade Global (D)
pH	C <sub>in</sub> (mg/L)	Q <sub>mod</sub> (mg/g)	Q <sub>mod</sub> (mg/g)	
4,0	40,0	37,2	67,9	0,61
4,2	40,0	39,3	68,0	0,64
4,4	40,0	41,4	67,9	0,65
4,6	40,0	43,4	67,7	0,67
4,8	40,0	45,4	67,3	0,68
<b>5,0</b>	<b>40,0</b>	<b>47,4</b>	<b>66,7</b>	<b>0,70</b>
<b>5,2</b>	<b>40,0</b>	<b>49,3</b>	<b>66,0</b>	<b>0,70</b>
<b>5,4</b>	<b>40,0</b>	<b>51,2</b>	<b>65,2</b>	<b>0,71</b>
<b>5,6</b>	<b>40,0</b>	<b>53,1</b>	<b>64,2</b>	<b>0,72</b>
<b>5,6</b>	<b>40,0</b>	<b>53,1</b>	<b>64,2</b>	<b>0,72</b>
<b>5,8</b>	<b>40,0</b>	<b>54,9</b>	<b>63,0</b>	<b>0,72</b>
<b>6,0</b>	<b>40,0</b>	<b>56,7</b>	<b>61,7</b>	<b>0,71</b>
<b>6,2</b>	<b>40,0</b>	<b>58,5</b>	<b>60,3</b>	<b>0,71</b>
<b>6,4</b>	<b>40,0</b>	<b>60,2</b>	<b>58,7</b>	<b>0,70</b>
6,6	40,0	61,9	56,9	0,69
6,8	40,0	63,6	55,0	0,67
7,0	40,0	65,3	52,9	0,65
7,2	40,0	66,9	50,7	0,62
7,4	40,0	68,5	48,4	0,59
7,6	40,0	70,0	45,9	0,56
8,0	40,0	73,0	40,4	0,46